

True Confocal Scanner
Leica TCS SP2

Manuel d'utilisation



1. Généralités

1.1. A propos de ce manuel d'utilisation

Ce manuel d'utilisation vise principalement les consignes de sécurité qui doivent être strictement respectées lors du travail avec le microscope à balayage laser.

Ce manuel d'utilisation vous donne par ailleurs une vue d'ensemble sommaire du mode de fonctionnement des microscopes à balayage laser, vous indique les premiers pas pour le démarrage et la mise en service du système et vous fournit une description du logiciel Leica Confocal.

Le Leica TCS SP2 est fourni avec la dernière version du logiciel licencié Leica Confocal. Pour maintenir les informations à jour, nous avons sciemment renoncé dans ce manuel d'utilisation à une description des fonctions du logiciel. Nous renvoyons en échange à l'aide en ligne du logiciel Leica Confocal où vous obtiendrez les explications et instructions les plus récentes concernant les fonctions du logiciel.

Lisez le chapitre «Introduction à l'aide du logiciel Leica Confocal» dans ce manuel d'utilisation pour vous familiariser dans un premier temps avec sa structure et son utilisation. Vous pourrez ensuite consulter sous forme électronique sur votre ordinateur d'autres informations concernant des fonctions déterminées.

2. Remarques au sujet de la législation

Fabriqué en République Fédérale d'Allemagne.

© Copyright 2001-2004, Leica Microsystems Heidelberg GmbH. Tous droits réservés.

Cette publication ne peut être reproduite ou transmise intégralement ou même partiellement de façon électronique ou mécanique sans l'autorisation expresse de Leica Microsystems Heidelberg GmbH. Ceci inclut la photocopie, le dessin ou l'enregistrement sur un système consultable ainsi que la traduction dans une autre langue.

DROITS DE PROPRIETE

Les données contenues dans ce document sont la propriété de Leica Microsystems Heidelberg GmbH et sont disponibles exclusivement pour les clients de cette entreprise pour garantir leur sécurité ainsi qu'un travail efficace et une maintenance correcte du produit décrit dans ce manuel. L'utilisation ou la transmission des données, qui sont la propriété de Leica Microsystems Heidelberg GmbH, avec pour but de les utiliser pour fabriquer ou reproduire le produit décrit ici ou d'utiliser un produit similaire est interdite, et la remise de ce document n'implique en aucun cas une licence ou un accord implicite.

REMANIEMENTS ET MODIFICATIONS

Leica Microsystems Heidelberg GmbH se réserve le droit de remanier ce document et/ou de continuer à développer et améliorer le produit décrit sans avis préalable ou autres obligations. Les informations et caractéristiques techniques dans ce manuel peuvent être à tout moment modifiées sans avis préalable.

GARANTIE

Leica Microsystems Heidelberg GmbH met à disposition cette publication sans garantie d'absence erreur ou de garantie de quelque nature, explicite ou implicite, comprenant sans restriction la garantie implicite de sa commerciabilité ou de son adaptation à un but précis. Toutes les mesures de sécurité appropriées ont été prises en créant ce document, y compris l'exécution d'un contrôle des aspects techniques et non techniques. Leica Microsystems Heidelberg GmbH ne se porte pas garant pour d'éventuelles erreurs ou omissions. De même, Leica Microsystems Heidelberg GmbH n'est pas responsable des dommages directs, fortuits ou des conséquences qui pourraient être causées par l'utilisation du matériel contenu dans ce document.

MARQUES PROTEGEES ET DEPOSEES

Des marques déposées sont citées dans ce manuel. Au lieu de mettre un sigle de marque déposée (™) à chaque indication de la marque déposée, nous expliquons par la présente que nous utilisons ces noms seulement de manière rédactionnelle et sans intention d'enfreindre les marques déposées, à l'utilisation du propriétaire de la marque.

SECURITE

Les termes utilisés relatifs à la classe de sécurité laser se rapportent à la norme EN 60825-1. Pour le champ d'application de la norme CDRH, il convient de remplacer dans

le texte la classe de laser 4 par IV, la classe de laser 3B par IIIb, la classe de laser 3A par III A, la classe de laser 2 par II ainsi que la classe de laser 1 par I.

Cet appareil a été conçu et fabriqué pour répondre aux normes de puissance en vigueur pour les produits laser de classe 3b, comme définies par les normes et règlements de USHHS CDRH/FDA, OSHA et EN, en vigueur au moment de la fabrication.

Comme toutes les situations potentielles de danger ne peuvent pas être prévues, l’utilisateur est tenu d’installer, d’utiliser et d’entretenir le produit en faisant preuve de soin et de bon sens et de prendre toutes les mesures de sécurité adaptées valables pour l’utilisation d’un laser de classe 3b ainsi que pour les appareils électriques à haute tension.

Il est déconseillé de s’écarter des procédés d’utilisation et de maintenance publiés. Chaque écart par rapport aux procédés d’utilisation et de maintenance indiqués se fait au seul risque de l’utilisateur.

LICENCE DU LOGICIEL

Le logiciel décrit dans ce document est soumis à un accord de licence, qui est compris dans le produit. Cet accord explique les conditions dans lesquelles le produit doit ou ne doit pas être utilisé.

3. Les symboles et leur signification



Un tel avertissement signale que chaque procédé d'utilisation, processus, condition ou remarque doit être strictement observé et respecté, sous peine de blesser voire de tuer les personnes qui travaillent avec cet appareil.



Cette consigne de sécurité signale que chaque procédé d'utilisation, processus, condition ou remarque doit être strictement observé et respecté, sous peine d'endommager gravement l'appareil ou les données ou de perdre des données.



Les remarques contiennent des informations sur un sujet précis ou des indications particulières de manipulation du produit.

4. Utilisation conforme à l’usage prévu / destination

Le système a été conçu pour l’enregistrement confocal (Images matricielles laser) d’échantillons vivants et fixés, marqués avec des substances fluorescentes ainsi que pour des mesures quantitatives dans le domaine des sciences biologiques. Ce système est prévu pour une utilisation en laboratoire. Des applications en tant que diagnostics in vitro selon la loi des produits médicaux sont exclues d’une utilisation conforme à l’usage prévu.

Le fabricant n’assume aucune responsabilité pour toute utilisation non conforme à l’usage prévu, pour une utilisation en dehors de la spécification de Leica Microsystems Heidelberg GmbH ni pour les risques pouvant le cas échéant en résulter. Dans de tels cas, la déclaration de conformité perd sa validité.

5. Mesures et dimensions Leica TCS SP2

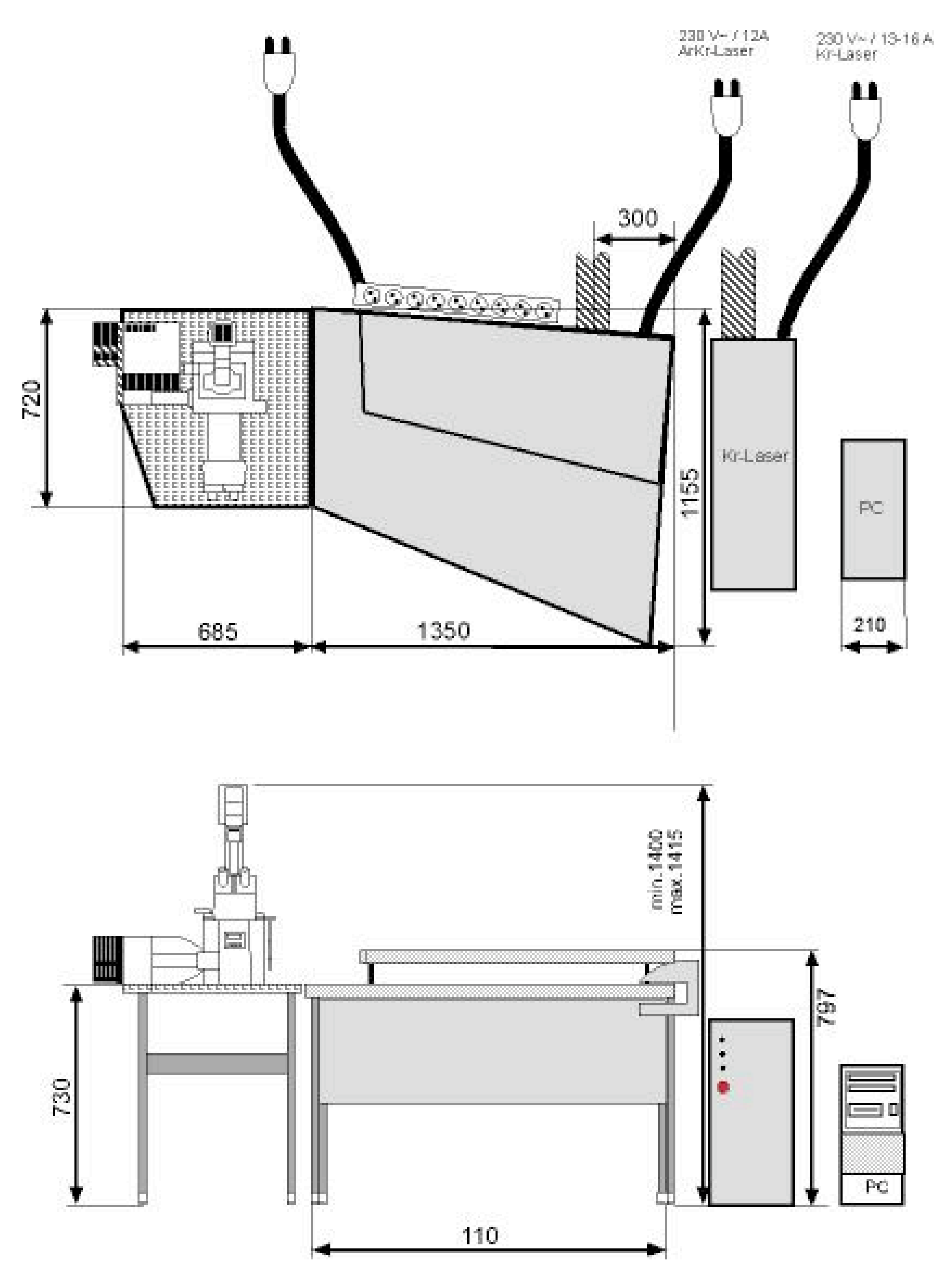


Figure 1:Mesures et dimensions du microscope à balayage laser Leica TCS SP2 RS (toutes les mesures sont en mm)

5.1.Spécifications techniques et conditions de branchement pour TCS SP2

Le Leica TCS SP2 est classé dans la classe de surtension II / degré d'encrassement 2

	SP2 VIS	**+Kr 568 nm**	**+UV 351/364 nm**	**+LP5 échan-geur thermi-que**	**+LP20 échan-geur ther-mique**
	Plusieurs combinaisons de laser possibles	Melles–Griot	Coherent Enterprise	Coherent	Coherent

Conditions de branchement électriques	2 x 230 V CA, 50/60 Hz, phases indépendantes, 12 A. ou 2 x 208 V CA, 50/60 Hz, phases indépendantes, à protéger par fusibles de 22–25 A par le client (suivant les dispositions légales locales) (pour l'utilisation avec deux transformateurs 180–220 V primaire/230 V secondaire)			230 V CA, 50/60 Hz, protection par fusible de 13–16 A (en fonction des prescriptions nationales spécifiques)incombant au client ou 208 V CA, 50/60 Hz, protection par fusible de 13–16 A (en fonction des prescriptions nationales spécifiques) incombant au client	208–240 V CA, 50/60 Hz, 7 kVA (34 A pour 208 V, 31 A pour 230 V) Type de connecteur : en Europe CEE 32 A, 5 P, 400 V ; hors d'Europe : NEMA 6–50	94–106 V CA / 6,2 A ou 107–127 V CA / 5,5 A ou 207–233 V CA / 3,0 A ou 234–255 V CA / 2,75 A (tous 50/60 Hz)	208–240 V CA / 10 A, 50/60 Hz
Dimensions LxPxH [mm]	Système avec microscope droit	Système avec microscope inverse	Système avec microscope droit et inverse	900x270x600	Tête laser : 1200x240x450 Bloc d'alimentation : 610x450x200	435x675x535	765x510x610

	2090x1100x1500	2340x1100x1400	3030x1100x1500			Il faut respecter une distance latérale à l’échangeur thermique de 900 mm au minimum. Il faut maintenir l’entrée et la sortie de l’échangeur thermique dégagées	
	Un dégagement minimal de 300 mm est à prévoir sur tous les côtés du système.						
Poids [kg]	max. 320			36	71	50	90

Dégagement de chaleur (système)/	max. 5 kW	max. 2,5 kW	max. 4,5 kW en cas de refroidisse-ment à eau (LP5 ou LP20) ; 300 W en cas de refroidisse-ment à air	max. 5 kW en cas de re-froidisse-ment à air	5 kW en cas de re-froidisse-ment à eau ex-terne ; débit d'eau 8–30 litres par minu-tes à 7 bar max.

	Refroidissement à air du laser de 2,5 kW par système de refroidissement à sous–pression. Si la chaleur dissipée n'est pas évacuée, la température du local augmente ! Quand on utilise des objectifs standard et des immersions standard, on obtient un comportement optique idéal du système uniquement à 22ºC +/– 1ºC. Diamètre de raccord : 150 mm. Débit d'air : 350 m3/h	Refroidissement à air du laser de 2,5 kW par système de refroidissement à sous–pression. Si la chaleur dissipée n'est pas évacuée, la température du local augmente ! Quand on utilise des objectifs standard et des immersions standard, on obtient un comportement optique idéal du système uniquement à 22ºC +/– 1ºC. Diamètre de raccord : 125 mm. Débit d'air : 350 m^3/h	Diamètre de raccord 5/8 inch (15,88 mm) min. ; la température de l'eau de refroidissement doit être supérieure au point de condensation de l'air ambiant.	Il est recommandé d'installer l'échangeur thermique à un autre endroit que celui où est installé le système confocal et le laser. Distance maximale autorisée : 30 m dans le sens horizontal, 5,5 m dans le sens vertical	

Environnement / Conditions ambiantes	18 – 25°C Humidité relative 20 – 90%, sans condensation Eviter la proximité directe de climatiseurs ; éviter les courants d'air ; protéger contre la poussière. Obscurcissement de la pièce recommandé. Eviter les vibrations. Vitesses de vibrations admissibles : Plage de fréquences [5 Hz....30 Hz] : inférieur à 30µm/sec rms (rms= erreur carrée moyenne) Plage de fréquences > 30 Hz : inférieur à 60µm/sec rms Pour la stabilité maximale du système, la température ambiante devrait être constante à 22°C +/- 1°C même si le système n'est pas utilisé temporairement.		max. 40°C	max. 40°C	
Classe de lasers	IIIb/3B	IIIb/3B	IIIb/3B		

	+Diode 405 nm	+Diode 430 nm	+HeCd 442 nm	+MP	+Echangeur thermique
	Vioflame	Melles–Griot	Kimmon IK4153R–C	Plusieurs combinaisons de laser possibles	(suivant le système de laser infrarouge utilisé)
Conditions de branchement électrique	100–240 V CA, 0,7 A, 47–63 Hz	90–240 V CA, <100 VA, 47–63 Hz	230 V CA, 3 A, 50/60 Hz	230 V CA, 10 A, 50/60 Hz ou 110 V CA, 15 A, 50/60 Hz	230 V CA, 6 A, 50/60 Hz ou 110 V CA, 10 A, 50/60 Hz
Dimensions LxPxH [mm]	Tête laser : 500x200x120 Bloc d'alimentation : 300x110x50	Tête laser : 500x200x120 Bloc d'alimentation : 232x215x100	Tête laser : 965x218x335 Bloc d'alimentation : 292x272x150	voir les plans d'installation individuels en fonction de la configuration	voir les plans d'installation individuels en fonction de la configuration
Poids [kg]	Tête laser : 3 Bloc d'alimentation : 2	Tête laser : 3 Bloc d'alimentation : 2,5	Tête laser : 13 Bloc d'alimentation : 17	Mira/Verdi : 145 Tsunami/Millenium : 120 Mai Tai : 95 Optical bench : max. 280	Mira/Verdi : 11 Tsunami/Millenium : 40 Mai Tai : 40

Dégagement de chaleur (système)/ Puissance de refroidissement (échangeur thermique)	<10 W	<6 W	550 W	1,5 kW	1 kW
			Ventilateur externe. Diamètre de raccord : 85 mm		
Environnement / Conditions ambiantes			10 – 40°C Humidité relative <90%, sans condensation	en option avec un amortissement par air comprimé pour le découplage des vibrations	
Classe du laser	IIIb/3B	IIIb/3B	IIIb/3B	IV/4	

6. Consignes générales de sécurité

6.1. Consignes de sécurité pour l'utilisateur

■ **Lisez et respectez les consignes de sécurité contenues dans ce manuel d'utilisation et tenez compte des étiquettes de sécurité apposées sur l'appareil.**

Le non respect de ces consignes de sécurité peut entraîner des blessures corporelles graves ainsi que d'importants dommages matériels au niveau de l'appareil et des données.

■ **Respectez les consignes contenues dans ce manuel pour l'utilisation de l'appareil.**

■ **Avant d'exécuter une étape de travail déterminée avec l'appareil, lisez toujours au préalable la description correspondante de la fonction dans l'aide en ligne.**
Vous trouverez une vue d'ensemble de chaque fonction dans le sommaire de l'aide en ligne.

■ **Ne raccordez pas d'appareils étrangers.**
Seuls les appareils électriques mentionnés dans ce manuel d'utilisation peuvent connectés au produit. Veuillez sinon vous adresser à votre service après-vente local ou directement à Leica Microsystems Heidelberg GmbH.

6.2. A quelles normes correspond ce produit ?

Cet appareil a été testé et est conforme aux normes suivantes :

- IEC/EN 61010-1 «Règles des sécurité pour appareils électriques de mesurage, de régulation et de laboratoire»
- IEC/EN 61326 «Matériels électriques de mesure, de commande et de laboratoire - Prescriptions relatives à la CEM» (Classe A)
- IEC/EN 60825-1 «Sécurité des appareils à laser / Partie 1 : Classification des matériels, prescriptions et guide de l'utilisateur»
- CDRH 21 CFR 1040.10 : Laser Products
  U.S. Food and Drug Administration (FDA) («Complies with FDA performance standards for laser products except for deviations pursuant to laser notice No. 50, dated 26 July, 2001.»)

6.3. Que doit respecter l'exploitantdu microscope à balayage laser ?

■ **L'exploitant du produit assume la responsabilité de l'utilisation conforme et sûre du produit, de la sécurité de son entretien et du respect des prescriptions en vigueur en matière de sécurité.**
L'exploitant est entièrement responsable des suites résultant d'une utilisation de l'appareil à des fins autres que celles mentionnées dans le manuel d'utilisation ou l'aide en ligne.

■ **L'exploitant est tenu de mettre en œuvre des mesures de sécurité adéquates et de les surveiller (selon IEC 60825-1 et les prescriptions nationales correspondantes).**
Les utilisateurs doivent être instruits des dangers potentiels relatifs à l'utilisation d'installations à laser.

■ **Pour garantir le classement en tant que dispositif laser de classe 3B et le respect des consignes de sécurité électrique, tous les dispositifs, verrouillages et systèmes de sécurité du dispositif laser doivent être en ordre de marche.**
La désactivation ou l'endommagement de ces dispositifs de sécurité ou toute intervention sur un de ces dispositifs de sécurité peut entraîner de graves lésions de l'œil, des blessures corporelles ou des dommages matériels. Dans un tel cas, Leica Microsystems Heidelberg GmbH n'assume aucune responsabilité.

■ Selon la norme IEC/EN 60825-1 : «Sécurité des dispositifs laser, partie 1 : Classification des matériels, prescriptions et guide de l'utilisateur», l'exploitant est tenu de nommer un responsable de sécurité laser **Responsable de sécurité laser** (Laser Safety Officer) ou un conseiller de protection (Laser Protection Advisor).

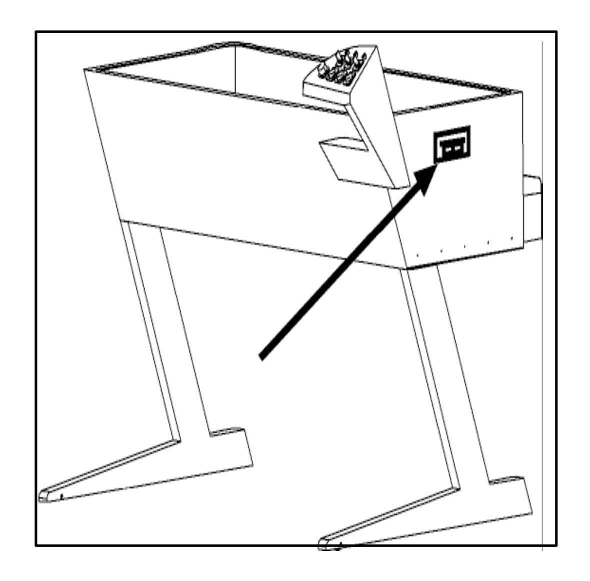
■ **Les réparations et interventions de service après-vente doivent être exclusivement exécutées par les techniciens après-vente autorisés de Leica Microsystems Heidelberg GmbH.**
L'exploitant est entièrement responsable de toutes les conséquences qui peuvent survenir si l'appareil est ouvert par des personnes autres que les collaborateurs après-vente autorisés de Leica et s'il n'est pas entretenu ou réparé conformément.

■ **En cas de réparation ou d'interventions après-vente qui exigent l'ouverture de parties du boîtier, il est seulement permis aux techniciens du service après-vente de Leica de se tenir dans le local où se trouve le microscope à balayage laser.**

Leica Microsystems Heidelberg GmbH n'est pas responsable des dommages qui résultent d'une non-observation des informations mentionnées ci-dessus. Les informations mentionnées ci-dessus ne modifient en aucun cas les clauses de garantie et de responsabilité, contenues dans les conditions générales de vente de Leica Microsystems Heidelberg GmbH.

6.4. Sécurité de fonctionnement

6.4.1. Mise hors tension du système



Sur le côté de l'unité d'alimentation se trouve un disjoncteur principal «Main Circuit Breaker» qui met le système tout entier hors circuit par une seule commutation.

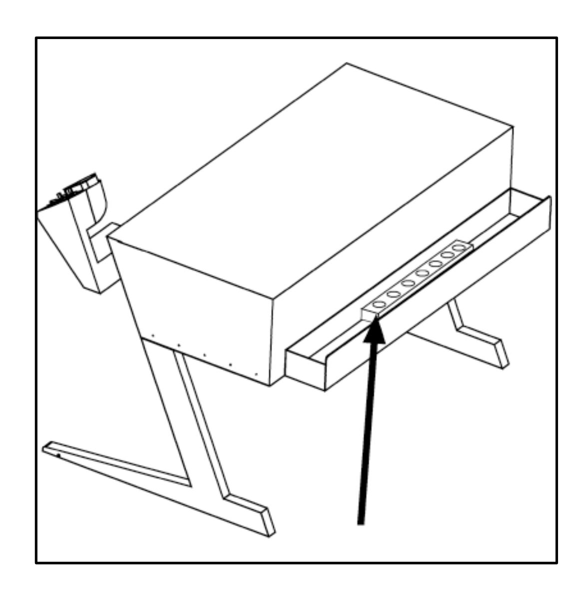
Le disjoncteur principal a à la fois la fonction d'un commutateur et celle d'un fusible de sûreté.

Ce dispositif est prévu en cas d'intervention après-vente ou en cas d'urgence.

Il ne sert pas à la mise en circuit et hors circuit normale du système.

Figure 2: Unité d'alimentation avec disjoncteur principal

6.4.2. Charge électrique maximale du bloc multiprises sur l'unité d'alimentation



La puissance totale absorbée de tous les consommateurs connectés au bloc multiprises doit être au maximum de 8 A.

Figure 3: Bloc multiprises, arrière de l'unité d'alimentation

6.5. Sécurité du laser

6.5.1. A quelle classe de lasers est-ce que ce produit correspond ?

Ce microscope à balayage laser est conformément à la norme IEC/EN 60825-1 un dispositif laser de la **classe 3B**.

Pour le domaine d'application de la norme CDRH/FDA (USA), la désignation classe de lasers 3B doit être remplacée dans le texte par IIIb.

6.5.2. Consignes de sécurité pour l'utilisation du microscope à balayage laser



Dans la chambre d'échantillon du microscope à balayage laser, le rayonnement laser est librement accessible après sa sortie de l'objectif pendant le processus de balayage. Cette circonstance exige une attention et des précautions particulières. Le contact de l'œil avec le rayonnement laser peut entraîner de graves lésions de l'œil. Il faut donc agir avec circonspection dès qu'un ou plusieurs témoins d'avertissement d'émission laser s'allument.
En cas d'utilisation conforme et de respect des consignes de sécurité un microscope à balayage laser ne représente aucun danger pour l'utilisateur.

■ **Ne regardez jamais directement le rayon laser ou un reflet du rayon laser. Evitez tout contact avec le rayon laser.**
Sinon la vue peut être irrémédiablement endommagée. Un rayon laser réfléchi est tout aussi dangereux qu'un rayon direct.

■ **Ne désactivez jamais les dispositifs de protections contre les rayons laser.**
Lisez le chapitre «De quels dispositifs de sécurité le microscope à balayage laser est-il équipé ?» pour vous familiariser avec les dispositifs de sécurité du microscope à balayage laser.

■ **Tenez compte du fait que la présence d'objets (comme p. ex. des micromanipulateurs) dans la chambre d'échantillons peut avoir pour conséquence que la lumière à laser pendant un processus de balayage peut quitter de façon incontrôlée le trajet optique sûr et mettre en danger l'entourage.**

■ **Ne changez pas de préparation pendant un processus de balayage.**

Marche à suivre

Microscope droit	Microscope inverse
Arrêtez le laser.	Arrêtez le laser.
	Basculez le bras à lumière transmise en arrière.
Changez maintenant de préparation. Positionnez l'échantillon correctement dans le porte-échantillons !	Changez maintenant de préparation. Positionnez l'échantillon correctement dans le porte-échantillons !
	Ramenez le bras à lumière transmise en position de travail.

- **Ne changez pas d'objectif pendant un processus de balayage.**

Marche à suivre

- Arrêtez le laser.

- Tournez le revolver à objectifs de façon à ce que l'objectif à changer pivote sorte du trajet optique et soit tourné vers l'extérieur.

- Changez maintenant d'objectif.

- Toutes les positions non occupées du revolver à objectifs doivent être obturées par les capuchons fournis.

- **Obturez toutes les positions non occupées du revolver à objectifs avec un capuchon.**

- **Ne changez pas de cartouche de filtre ni de répartiteur optique pendant un balayage.**

Marche à suivre

Microscope droit	Microscope inverse
Arrêtez le laser.	Arrêtez le laser.
Retirez le couvercle du module à fluorescence (voir le manuel d'utilisation du statif de microscope).	Sortez le module à fluorescence.
Retirez la cartouche de filtre / le répartiteur optique.	Retirez la cartouche de filtre / le répartiteur optique.
Insérez la cartouche de filtre / le répartiteur optique souhaité.	Insérez la cartouche de filtre / le répartiteur optique souhaité.
Replacez le couvercle devant le module à fluorescence.	Remettez le module à fluorescence en place.

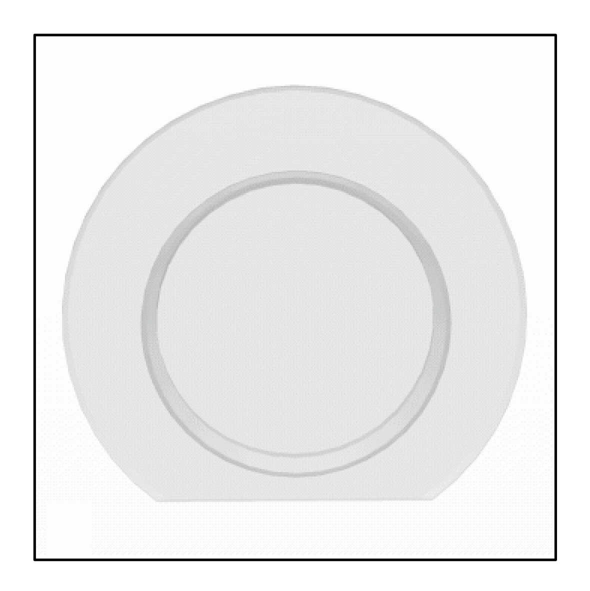
- **Ne retirez jamais un câble à fibres optiques.**

- **N'ôtez jamais la tête de balayage du statif de microscope pendant le fonctionnement.**
Avant la dépose de la tête de balayage, le système doit être complètement éteint.

- **N'utilisez pas de condenseur microscopique S70.**
Etant donné la grande distance de travail et la faible ouverture numérique du condenseur microscopique S70, il pourrait y avoir une mise en danger par rayonnement laser.
Utilisez par conséquent uniquement les condenseurs microscopiques Leica S1 et S23.

6.5.3. Boîtier de lampe à lumière transmise pour statifs droits

- **Statif droit sans boîtier de lampe à lumière transmise**



S'il n'y a pas de boîtier de lampe à lumière transmise connecté au statif droit, il faut pour se protéger contre l'éventuel rayon laser fermer complètement l'ouverture avec le couvercle joint.

- **Statif droit avec boîtier de lampe à lumière transmise :**

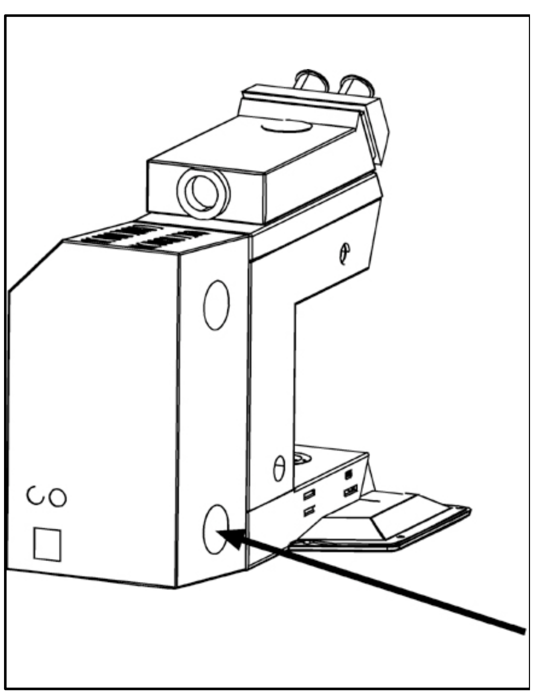


Figure 4: Connexion du boîtier de lampe à lumière transmise

Si votre statif droit est équipé d'un boîtier de lampe à lumière transmise et que vous désirez le remplacer, procédez de la façon suivante :

- Arrêtez le laser.
- Débranchez le boîtier de lampe de l'alimentation.
- Retirez le boîtier de lampe.
- Exécutez les opérations prévues sur le boîtier de lampe.
- A la fin des opérations revissez le boîtier de lampe sur le statif du microscope.



Pendant le laps de temps où il n'y a pas de boîtier de lampe connecté au statif de microscope, les lasers ne doivent pas être activés car sinon un rayon laser peut sortir par l'ouverture du statif de microscope.

6.5.4. Protection des yeux

Le port d'une protection des yeux n'est pas nécessaire. En cas d'utilisation conforme et de respect des consignes de sécurité, la valeur limite de rayonnement laser est respectée, ce qui exclut un danger pour l'œil.

6.6. De quels dispositifs de sécurité laser le microscope à balayage laser est-il équipé ?

6.6.1. Isolation

La lumière de tous les lasers VIS (gamme d'ondes 400-700 nm, spectre visible) et UV (gamme d'ondes < 400 nm, non visible) utilisés passe par un câble à fibres optiques et donc totalement isolée jusqu'à ce qu'elle quitte le microscope et rencontre la préparation.

6.6.2. Interrupteurs à clé



Figure 5: Interrupteur à clé pour les lasers internes

Les interrupteurs à clé servant de protection contre une utilisation non autorisée des dispositifs laser se trouvent sur le pupitre de commande.



Figure 6: Interrupteur à clé du laser externe 405 nm en option

En cas d'un laser externe 405 nm en option, l'interrupteur à clé pour le laser se trouve sur le bloc d'alimentation de ce dernier.



Pour les lasers qui ne sont pas commutés comme décrit ci-dessus, veuillez consulter l'emplacement de l'interrupteur à clé dans le manuel fourni par le fabricant de laser.

6.6.3. Témoins d'avertissement d'émission



L'ordre de marche du laser est signalé par un témoin d'avertissement d'émission.

Les témoins d'avertissement d'émission se trouvent au-dessus des interrupteurs à clé et s'allument en jaune.

Dès que le témoin d'avertissement d'émission du laser s'allume, il est fonctionnellement possible que le rayonnement laser se trouve dans la zone d'échantillon.

Figure 7: Témoins d'avertissement d'émission sur le pupitre de commande



Sur le laser 405 nm en option, le témoin d'avertissement d'émission (1) se trouve au-dessus de l'interrupteur à clé.

Figure 8: Témoin d'avertissement d'émission sur le laser externe 405 nm en option



Pour les lasers dont l'ordre de marche n'est pas signalé comme décrit ci-dessus, veuillez consulter l'emplacement du témoin d'avertissement d'émission dans le manuel fourni par le fabricant de laser.

6.6.4. Connecteur de verrouillage à distance sur l’unité d’alimentation du système TCS

Sur l’arrière de l’unité d’alimentation se trouve la prise de verrouillage «Interlock» (tension de service 15 V CC). Le connecteur de verrouillage à distance est branché à cette prise.

Le connecteur de verrouillage à distance comprend un shunt de court-circuit qui court-circuite les broches 1 et 5 comme le montre l’illustration suivante.

On peut brancher à la prise de verrouillage à distance «Interlock» des verrouillages à distance qui sont reliés au local, à la porte ou à d’autres verrouillages de sécurité locaux.

Quand le contact est ouvert, le trajet du rayon laser est interrompu.

La longueur totale du câble entre les deux fiches de raccord du connecteur de verrouillage à distance ne doit pas dépasser 10 m.

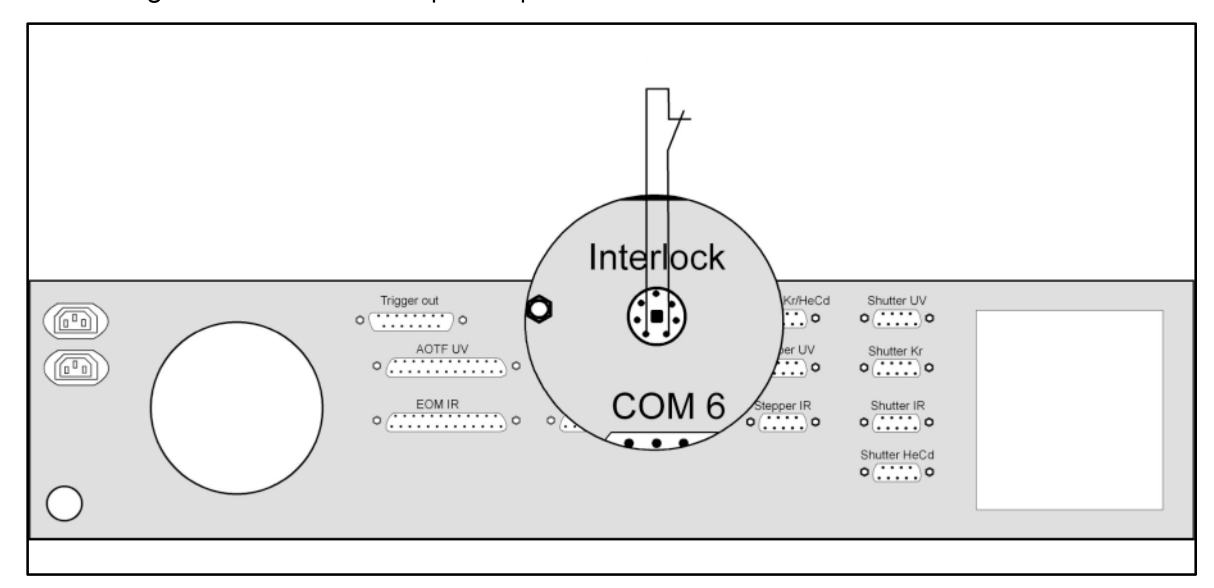
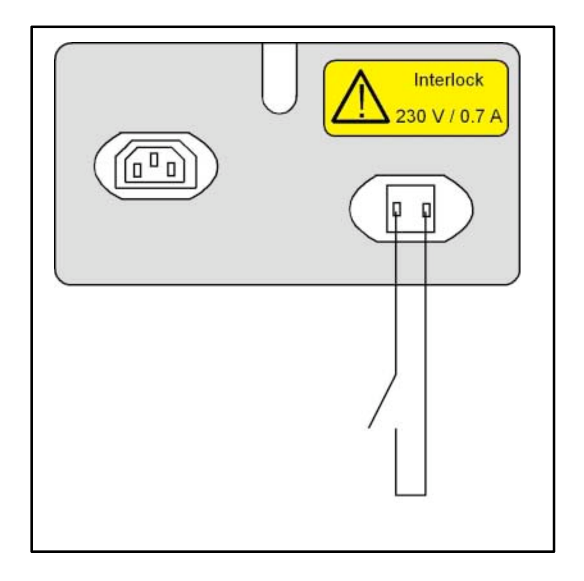


Figure 9: Câblage du connecteur de verrouillage à distance sur l’arrière de l’unité d’alimentation

6.6.5. Connecteur de verrouillage à distance pour laser 405 nm (option)



Si le microscope à balayage laser est équipé d'un laser 405 nm en option (non pulsé), la prise de verrouillage à distance “Interlock“ se trouve à l'arrière du bloc d'alimentation du laser.

Le connecteur de verrouillage à distance comprend un shunt de court-circuit.

On peut brancher à la prise de verrouillage à distance «Interlock» des verrouillages à distance qui sont reliés au local, à la porte ou à d'autres verrouillages de sécurité locaux.

Quand le contact est ouvert, le trajet du rayon laser est interrompu.

Figure 10: Câblage du connecteur de verrouillage à distance à l'arrière du bloc d'alimentation du laser



Le circuit de verrouillage à distance du laser 405 nm a une tension de service de 230 V CA.
Pour cette raison le circuit de verrouillage à distance du laser 405 nm ne doit en aucun cas être relié aux autres circuits de verrouillage à distance mais doit en être séparé de façon sûre.



En raison du danger d'électrocution que représente la tension 230 V, le remplacement d'une fiche de court-circuitage par un circuit de rupture externe (p. ex. commutateur Interlock de porte) peut uniquement être effectué par un électricien qualifié.

6.6.6. Guide-faisceau de sécurité et capture de faisceau sur les statifs de microscopes inverses

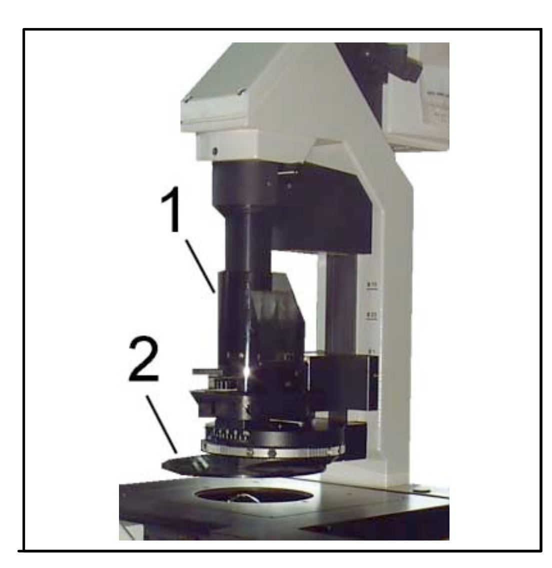


Figure 11: (1) Guide-faisceau de sécurité, (2) Capture de faisceau

Le guide-faisceau de sécurité et la capture de faisceau sur les microscopes inverses sont utilisés pour la protection contre le rayonnement laser et se trouvent entre le condenseur et le détecteur de lumière transmise.

6.6.7. Fonction et position des interrupteurs de sécurité

Lorsqu'on déclenche les interrupteurs de sécurité, le trajet du rayon laser est interrompu.

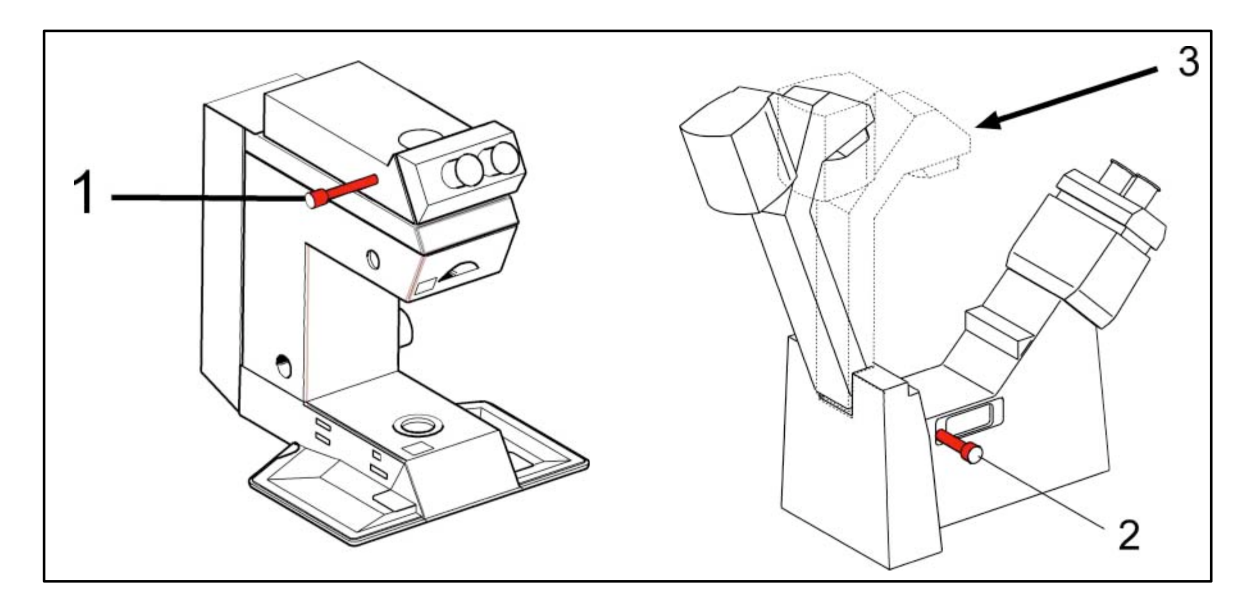


Figure 12: Position de l'interrupteur de sécurité sur le statif de microscope droit (à gauche) et sur le statif de microscope inverse (à droite)

Position	Activé par :	Type de microscope	Est activé si :	Fonction
1	Tige de commutation sur le répartiteur optique dans le tube du microscope	droit (DMR, DML FS)	Un prisme de répartiteur optique inséré dans le trajet optique du microscope.	Empêche la lumière parasite quand l'utilisateur passe de l'observation confocale à l'observation oculaire.
2	Tige de commutation sur le répartiteur optique dans le tube du microscope	inverse (DMIR)	Un prisme de répartiteur optique est inséré dans le trajet optique du microscope.	Empêche la lumière parasite quand l'utilisateur passe de l'observation confocale à l'observation oculaire.
3	Bras d'éclairage en lumière transmise	inverse (DMIR)	le bras d'éclairage est pivoté (par exemple pour une manipulation de l'échantillon)	Empêche la lumière laser pendant une manipulation de l'échantillon.

6.7. Quelles sont les étiquettes de sécurité utilisées ?

Les étiquettes de sécurité sont choisies en fonction de la configuration laser (VIS, UV, MP) et apposées aux endroits décrits ci-dessous.

6.7.1. Sur le statif de microscope droit

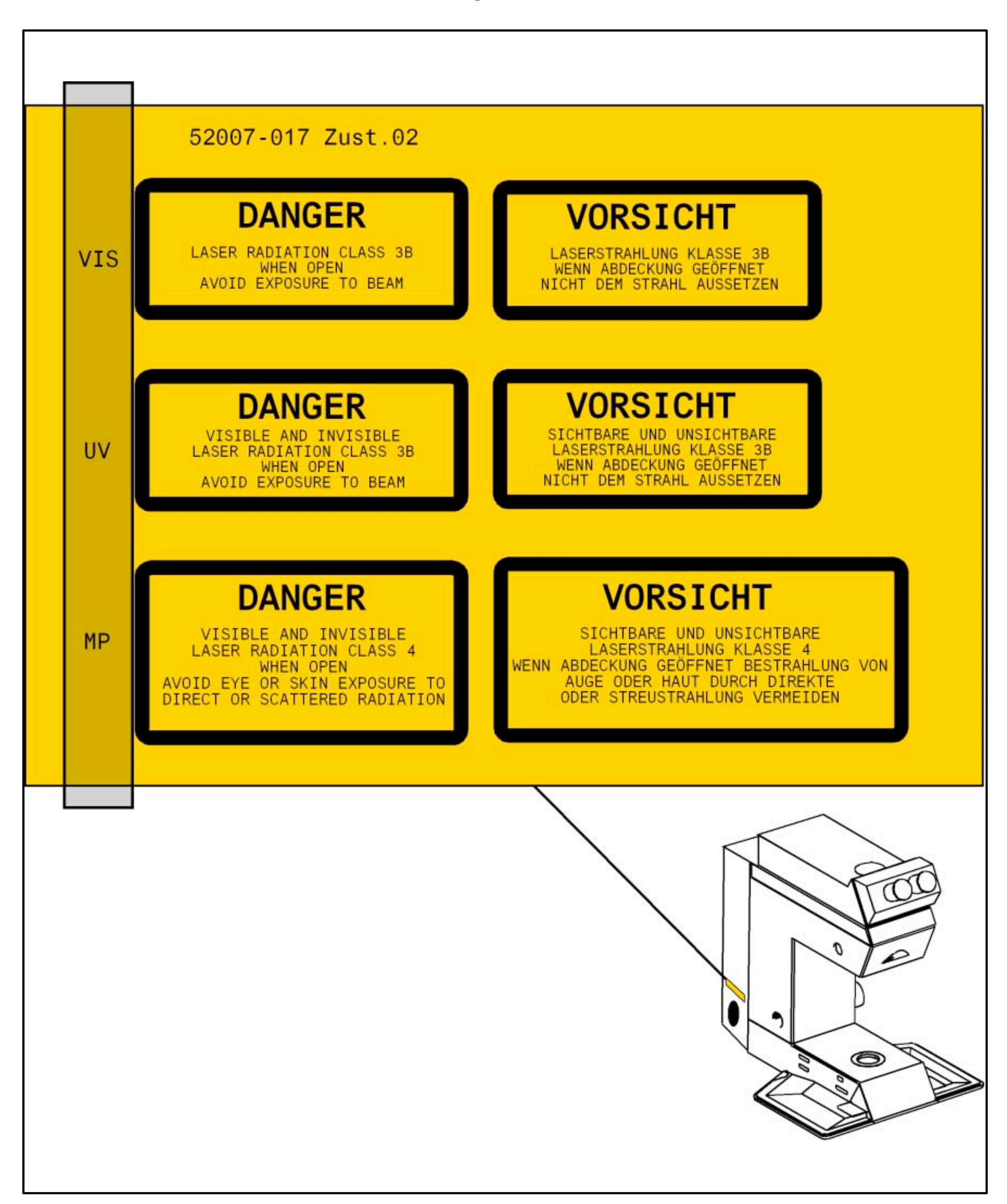


Figure 13: Etiquettes de sécurité sur le statif de la série de produits DM Rxxx (à gauche)

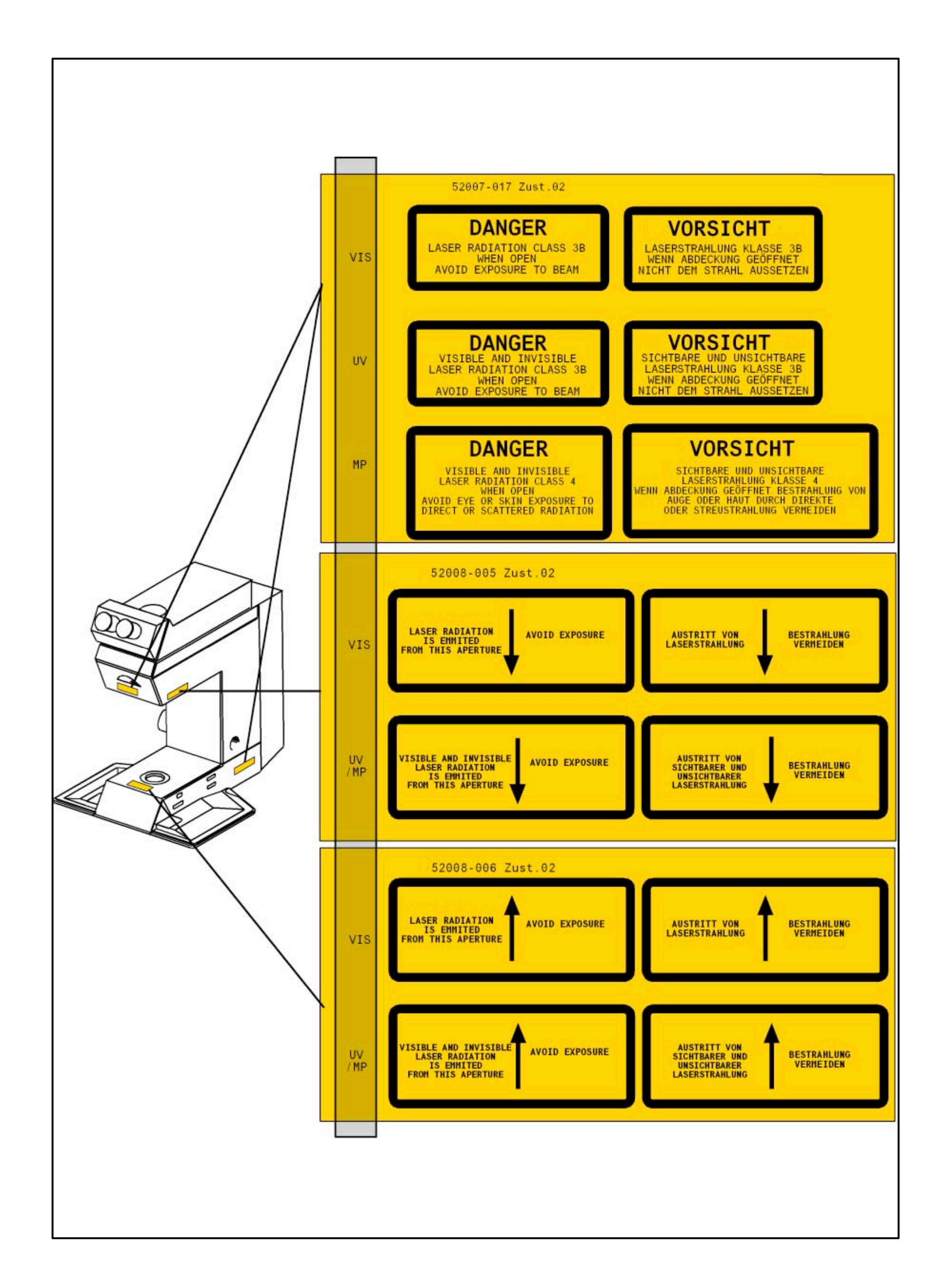


Figure 14: Etiquettes de sécurité sur le statif de la série de produits DM Rxxx (à droite)

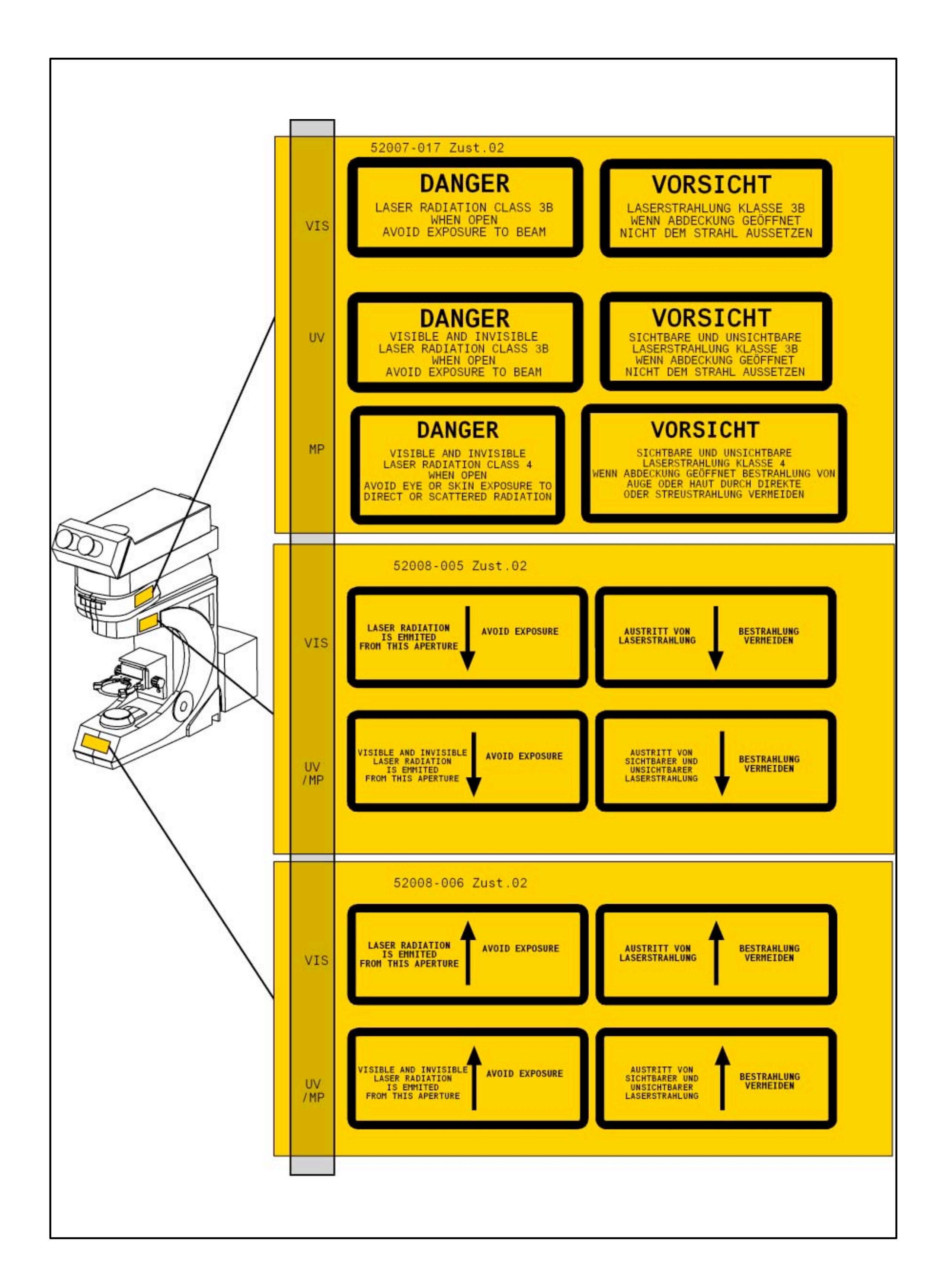


Figure 15: Etiquettes de sécurité sur le statif de la série de produits DM LFSxxx

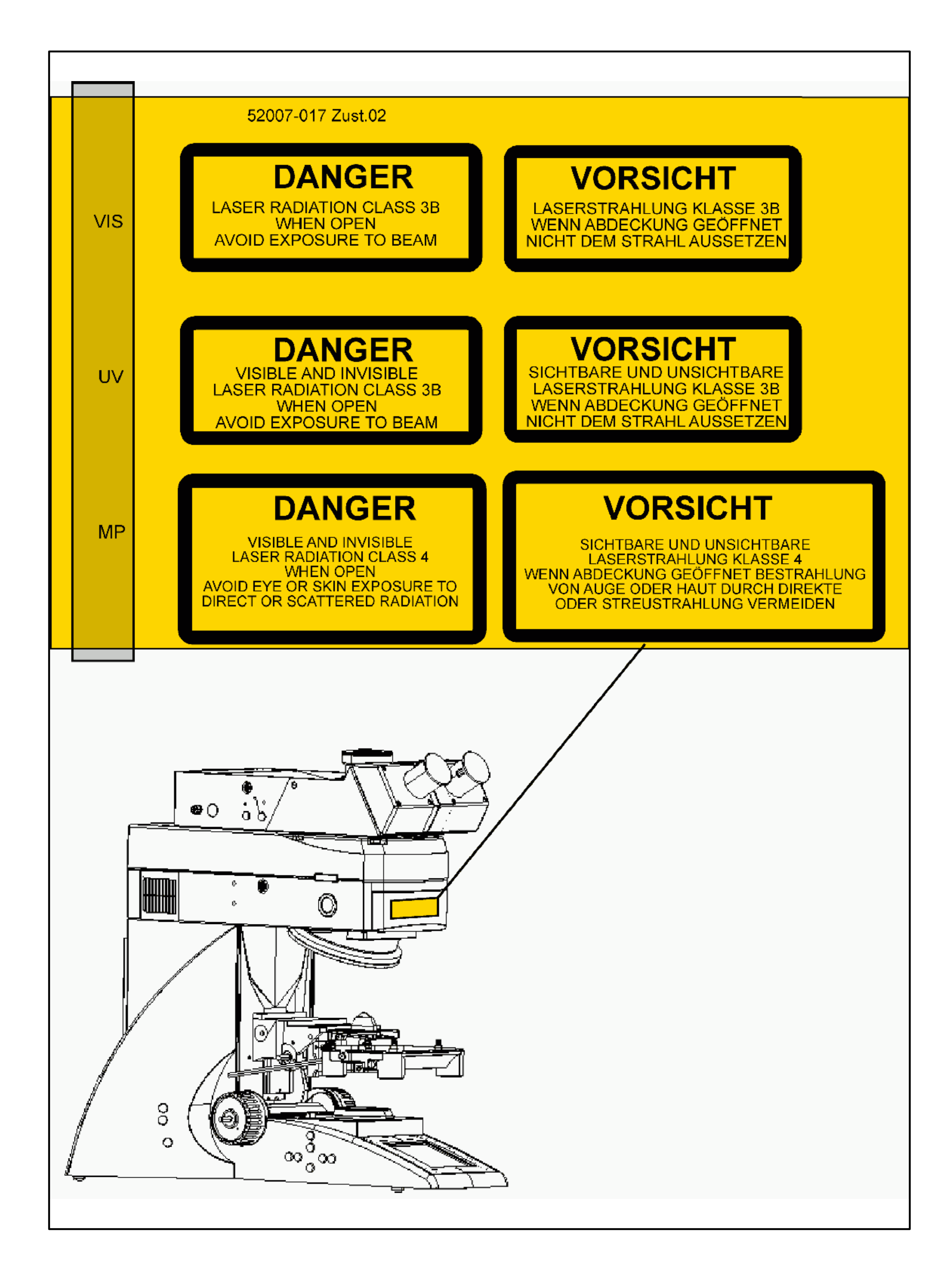


Figure 16:Etiquettes de sécurité sur le statif de la série de produits DM 6000 (devant)

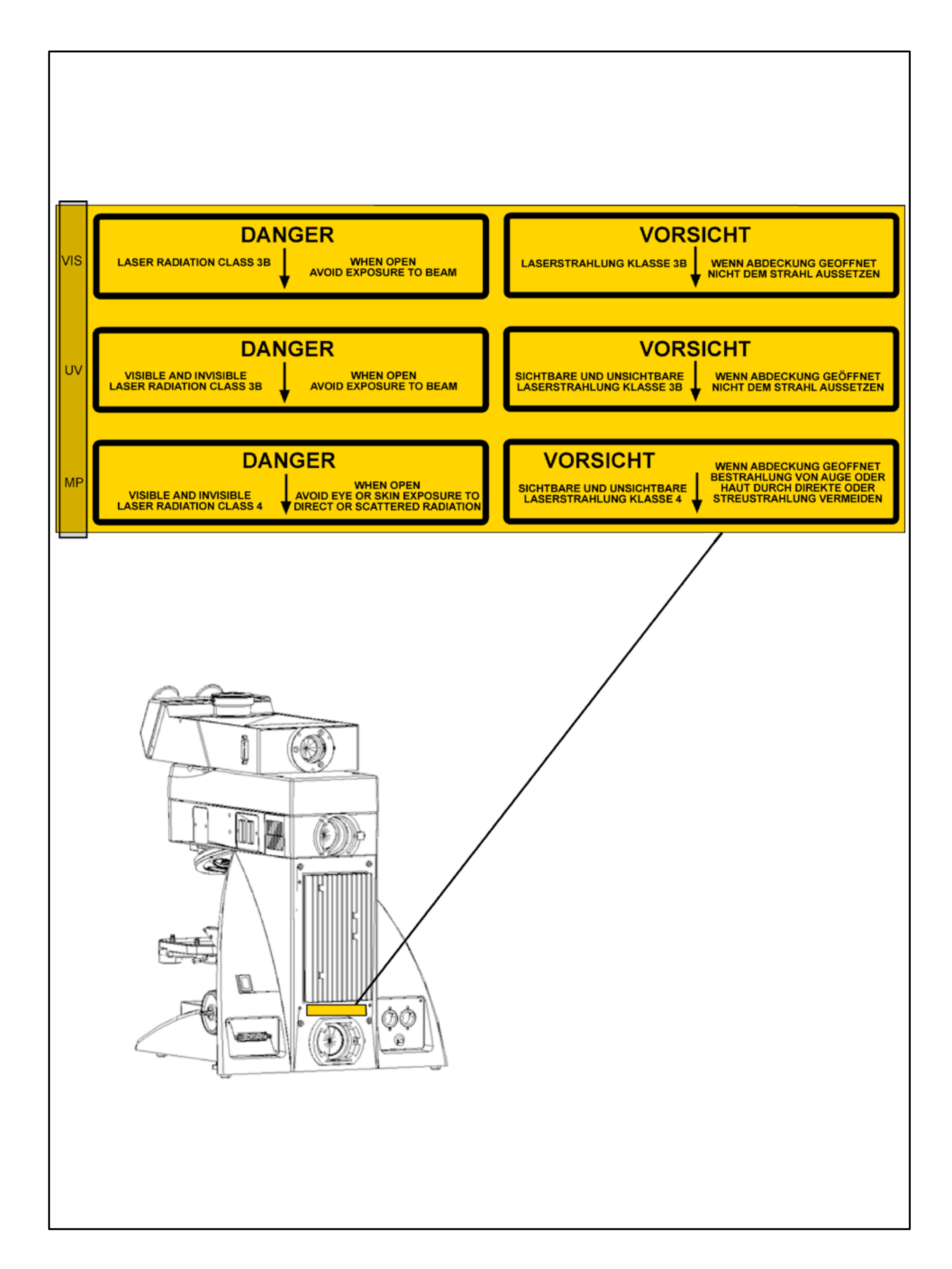


Figure 17: Etiquettes de sécurité sur le statif de la série de produits DM 6000 (derrière)

6.7.2.Sur le statif de microscope inverse

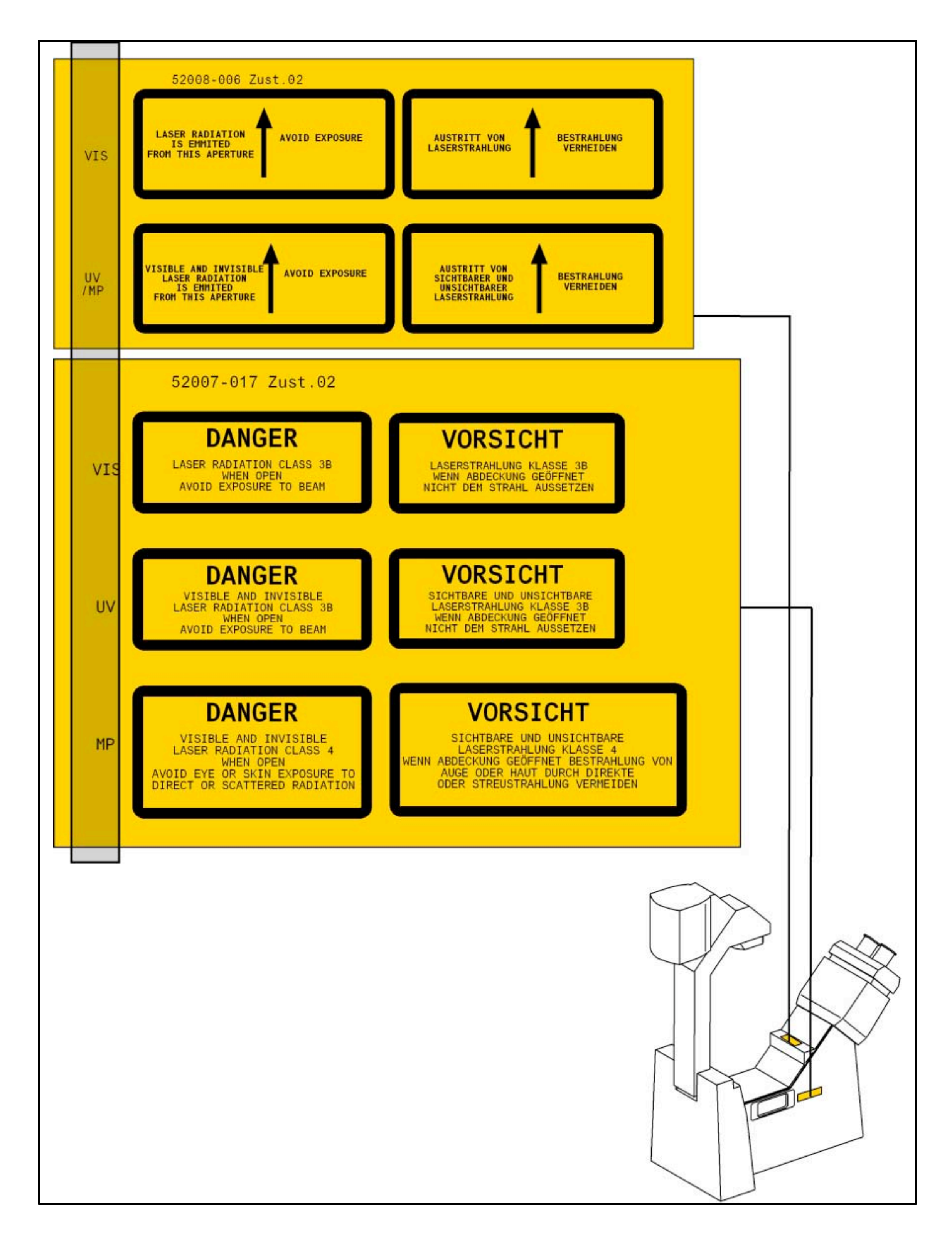


Figure 18: Etiquettes de sécurité sur le statif de la série de produits DM IRxxx

6.7.3.Sur la tête de balayage

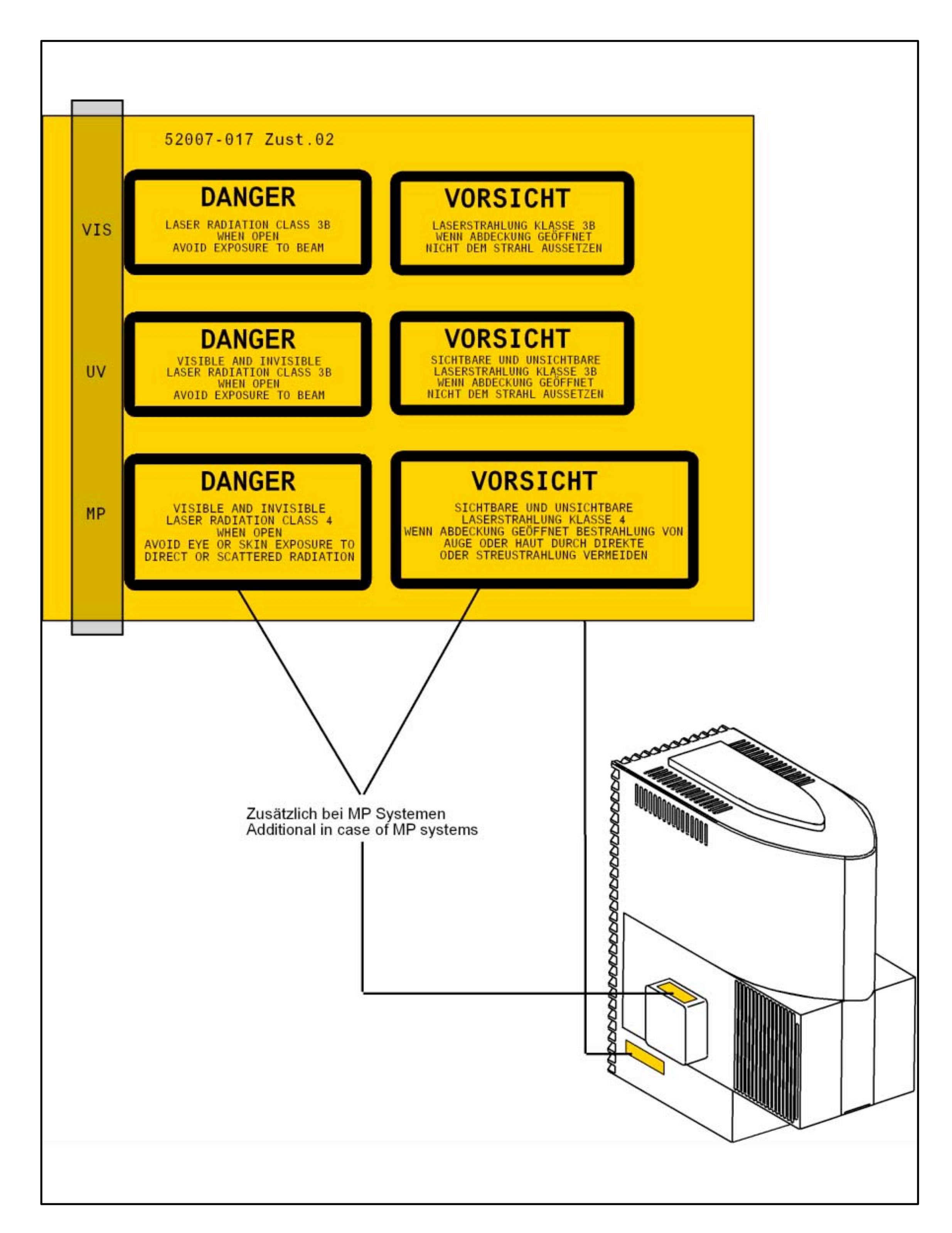


Figure 19: Etiquettes de sécurité sur la tête de balayage (à gauche)

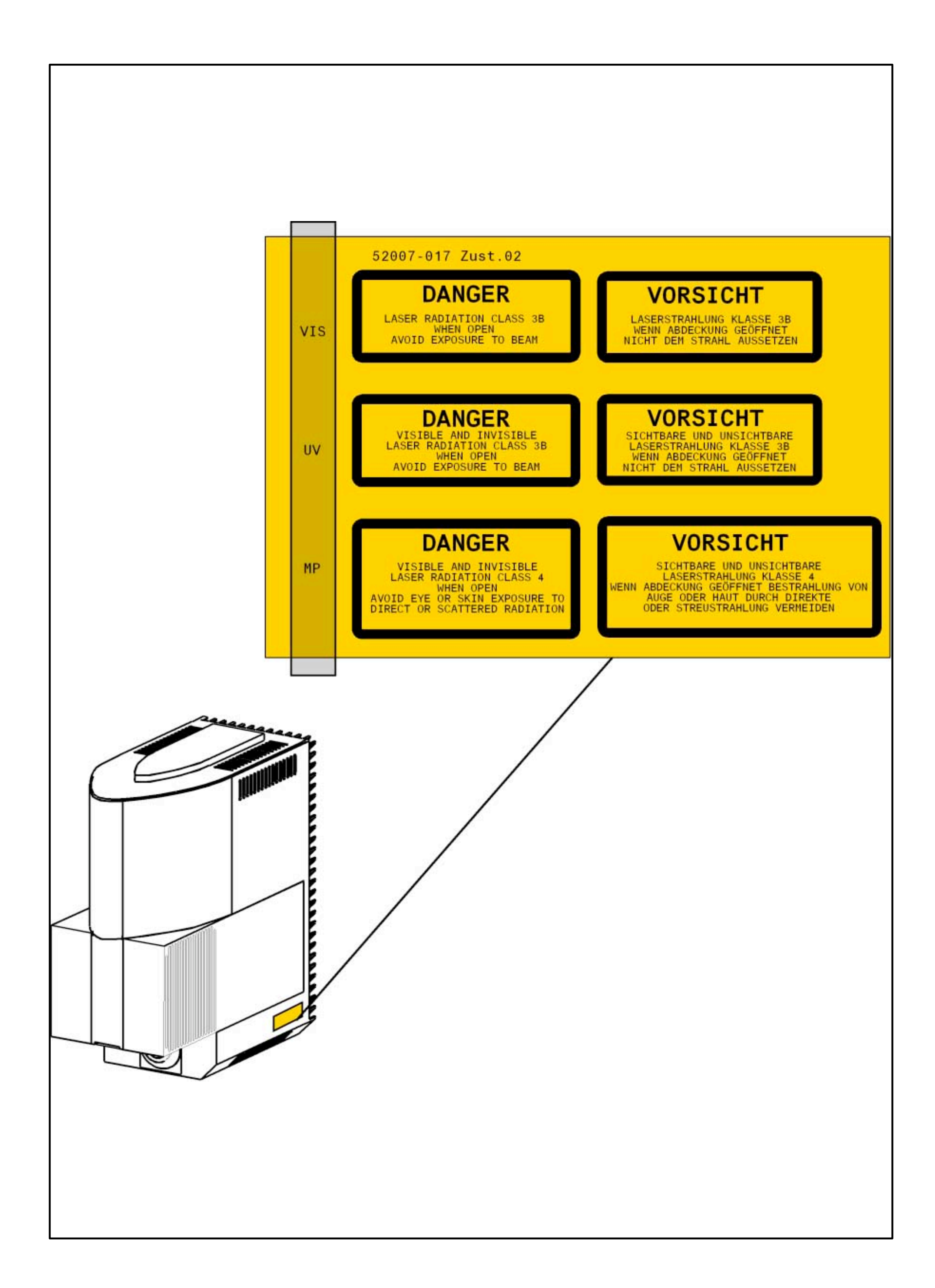


Figure 20: Etiquettes de sécurité sur la tête de balayage (à droite)

6.7.4. Sur l'unité d'alimentation

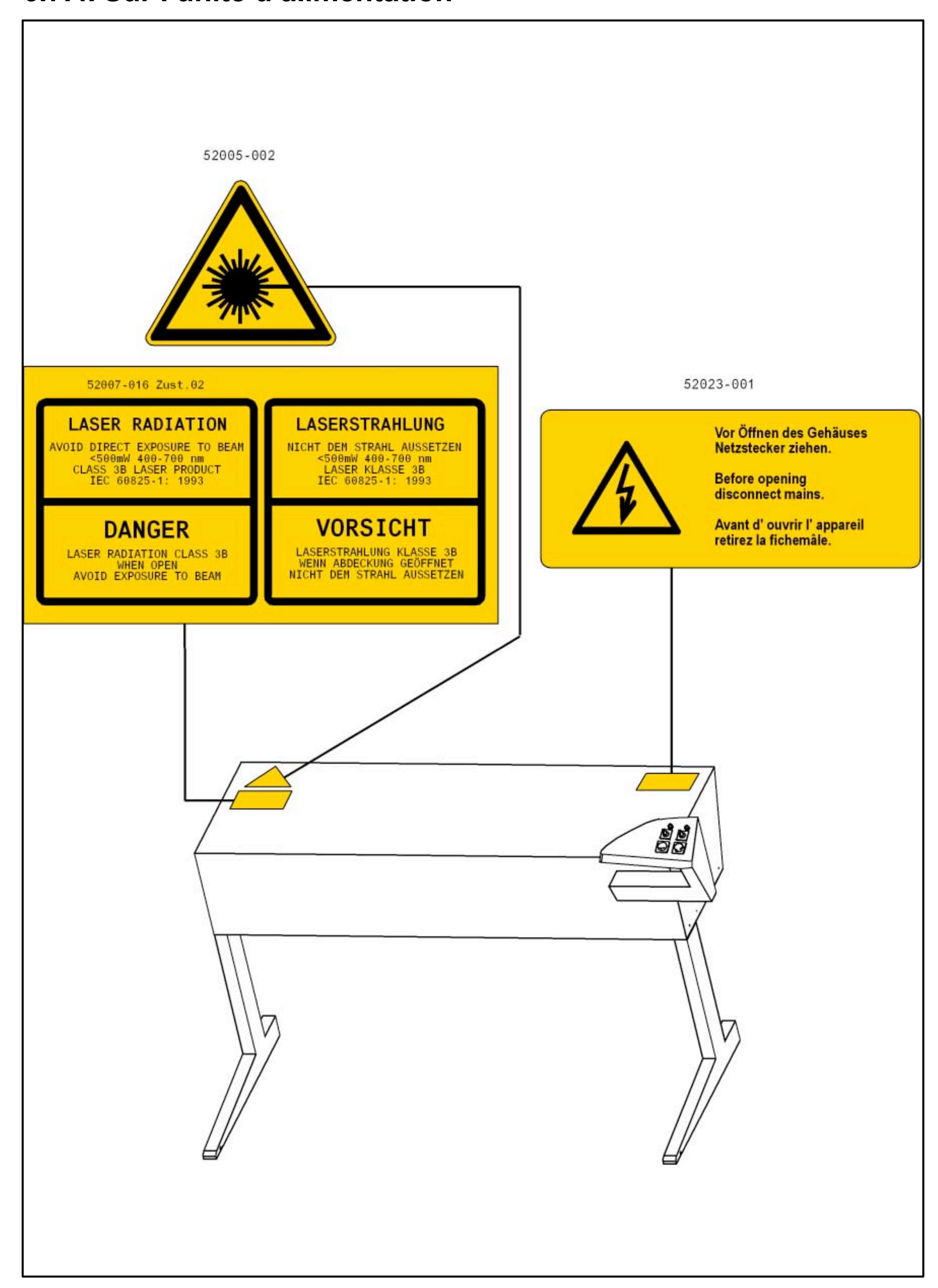


Figure 21: Etiquettes de sécurité sur l'unité d'alimentation

6.7.5. Sur un laser à diode 405 nm externe (optionnel) :

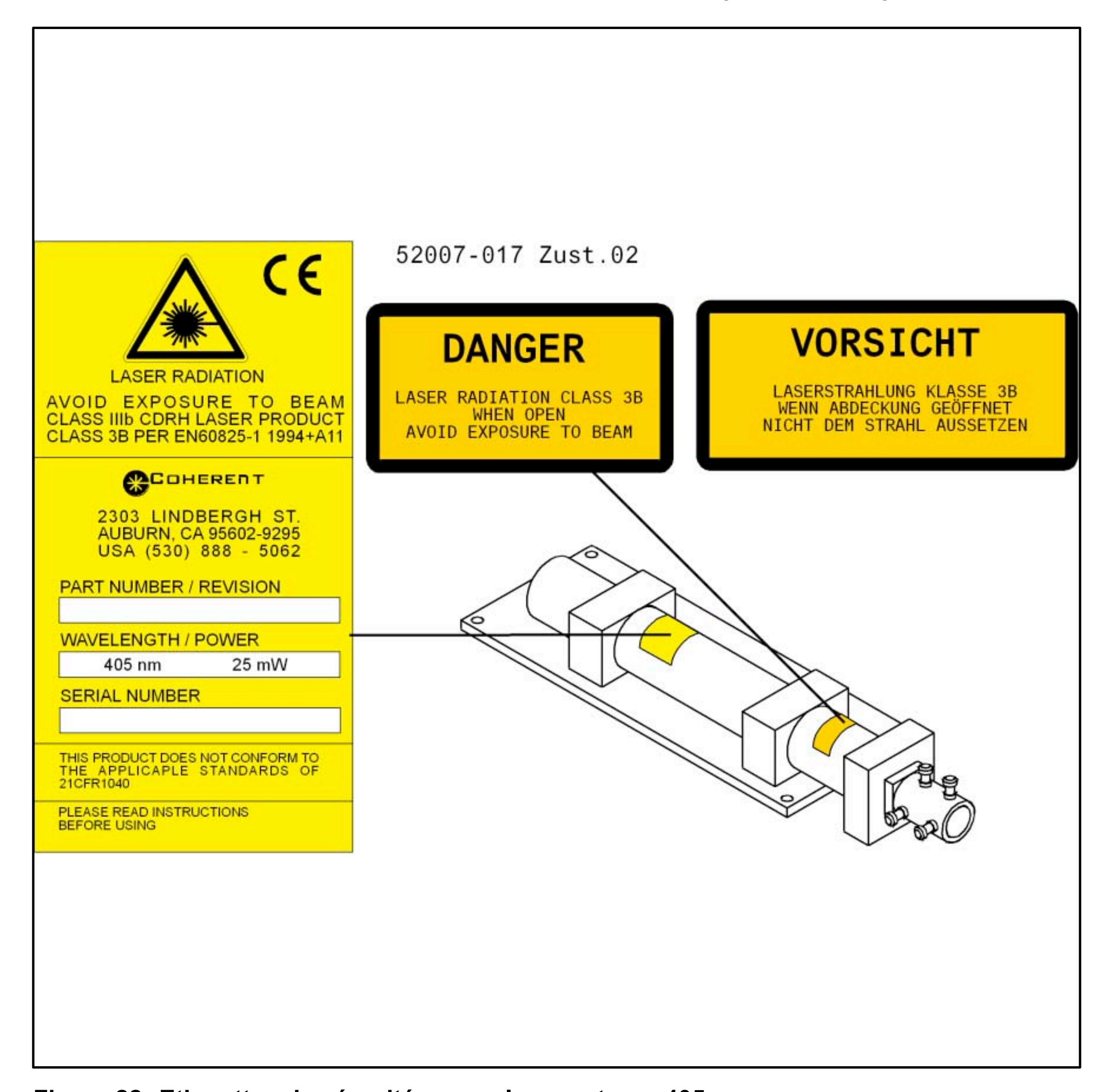


Figure 22: Etiquettes de sécurité sur un laser externe 405 nm

6.8. Vue d’ensemble des lasers pouvant être utilisés

Le microscope à balayage laser comprend une combinaison des lasers mentionnés ici.

Type de laser	Longueur d’onde [nm]	Rendement lumineux maximal à la sortie du laser [mW]	Rendement lumineux maximal dans le plan focal [mW]	Largeur d’impulsion
Ar-UV	351, 364	< 60	< 4	onde continue, non pulsé
Diode	405	< 25	< 3	onde continue, non pulsé
Diode	405	< 5	< 0,3 (rendement moyen)	pulsé, 60 ps
Corps solide	430	< 10	< 4	onde continue, non pulsé
HeCd	442	< 30	< 3	onde continue, non pulsé
DPSS442	442	< 12	< 3	onde continue, non pulsé
ArKr	488, 568, 647	< 125	< 25	onde continue, non pulsé
Ar	458, 476, 488, 496, 514	< 200	< 30	onde continue, non pulsé
Ar, externe	458, 476, 488, 496, 514	< 500	< 125	onde continue, non pulsé
HeNe	543	< 1,5	< 0,5	onde continue, non pulsé
DPSS561	561	< 12	< 4	onde continue, non pulsé
Kr	568	< 40	< 8	onde continue, non pulsé
HeNe	594	< 4	< 1	onde continue, non pulsé
HeNe	633	< 15	< 4	onde continue, non pulsé

6.9. Quelles sont les exigences envers le lieu d'installation en matière de sécurité ?

Les valeurs limites concernant l'émission de rayonnement électromagnétique (CEM) sont respectées selon EN 61326 pour cet appareil. Le risque résiduel de l'influence perturbatrice d'autres appareils ne peut être exclu.



Cet appareil a été conçu pour une utilisation en laboratoire et ne peut être mis en place dans une zone où se trouvent des appareils médicaux servant à la survie.



Cet appareil a été conçu pour être connecté à une prise mise à la terre. La prise mise à la terre est une fonction de sécurité importante. Afin de réduire les électrocutions ou les dommages matériels, cette fonction ne doit pas être désactivée.



Pour réduire les risques d'incendie ou d'électrocution, l'appareil ne doit jamais être placé sous la pluie ou dans un endroit humide. N'ouvrez le boîtier en aucun cas.

Aucun liquide ne doit pénétrer dans le boîtier de l'appareil, ni entrer en contact avec les composants électriques. L'appareil doit être totalement sec avant de le brancher à l'alimentation électrique ou de le mettre en marche.

6.10. De quoi faut-il tenir compte quand on change un microscope à balayage laser Leica de place ?



Avant tout changement de place du microscope à balayage laser, il faut le nettoyer à fond. De même, nettoyez-le à fond avant d'en démonter des éléments. Ceci concerne particulièrement les systèmes, qui se trouvent dans les laboratoires de recherche biomédicale.

Ceci est nécessaire afin d'éviter une éventuelle contamination ou la transmission de substances dangereuses et de germes, et par conséquent pour éviter de faire courir un danger à d'autres personnes.

Prenez garde non seulement à la surface mais aussi aux ventilateurs et climatiseurs, car ces appareils sont de véritables nids à poussière.

7. Production d'image à foyer commun

7.1. Qu'est-ce que la microscopie à foyer commun ?

Cette technologie a connu sa phase préparatoire en 1953, mais ce n'est qu'au cours des dix dernières années que la microscopie à balayage à foyer commun a été réellement mise en œuvre dans la pratique. Aujourd'hui, elle est utilisée de préférence dans la recherche biologique, l'analyse chimique et le contrôle des matériaux. Un appareil de ce type réunit les résultats de nombreuses années de recherche et développement dans de nombreux domaines différents : la microscopie, la technologie laser et optique pour la lumière cohérente, la technologie vidéo, l'électronique et l'informatique.

La microscopie à foyer commun permet de reconnaître des structures, en focalisant la lumière émise ou réfléchie par un échantillon à partir d'un seul plan focal et l'ensemble de la lumière qui ne provient pas de ce niveau est atténuée.

Lors d'un balayage de points à foyer commun, les lentilles du microscope focalisent la lumière laser sur un seul point de l'échantillon (le point focal). Le laser lit alors l'échantillon point par point et produit ainsi l'image scannée. La lumière de fluorescence et la lumière réfléchie de l'échantillon sont reconduites par l'objectif.

Le microscope et le système optique du module de balayage focalisent la lumière émise par le point focal sur un deuxième point, le point à foyer commun. Via le minuscule trou se trouvant sur le point à foyer commun (appelé sténopé, pinhole), la lumière du point focal peut arriver dans le détecteur. La lumière périphérique ne passe pas par le trou.

Le principe du foyer commun est représenté schématiquement pour la microscopie à épifluorescence.

Comme pour les microscopes classiques à épifluorescence, une lentille est utilisée aussi bien comme condenseur que comme objectif. Le grand avantage est qu'il n'est plus nécessaire d'équilibrer exactement et d'orienter ensemble deux lentilles. Un rayon laser collimé et polarisé guidé via une ouverture est réfléchi par un répartiteur optique (un miroir dichroïque) à l'arrière de la lentille de l'objectif et focalisé sur l'échantillon. La lumière réfléchie par l'échantillon est reconduite par la même lentille. Le rayon de lumière est focalisé à travers le sténopé (c.-à-d. l'ouverture à foyer commun), afin d'atténuer toute la lumière périphérique, soit la lumière qui est déposée par les autres parties de l'échantillon en dessous ou au-dessus du plan focal. Le volume des intersections optiques dépend de divers paramètres comme le diamètre (variable) de l'ouverture et la longueur d'onde. Les données intra-focales de chaque point sur l'échantillon sont enregistrées par un détecteur photosensible (par ex. une photodiode), placé derrière l'ouverture à foyer commun. Le signal de sortie analogique est numérisé et transféré à un ordinateur.

Pour le détecteur, il s'agit d'un détecteur de points ne captant la lumière que d'un seul point de l'échantillon. C'est pourquoi le microscope à foyer commun permet d'observer à un instant t un seul point de l'échantillon, contrairement au microscope classique qui permet d'observer une partie plus grande de l'échantillon. Une image générale de l'échantillon est obtenue grâce au balayage point par point de cet échantillon, au cours

duquel le point de lumière ou l'échantillon se déplace. Ces deux possibilités ont conduit au développement de deux types de microscopes à foyer commun :

Les microscopes avec platine porte-objets mobile (Stage scanning): la platine porte-objets sur laquelle est placé l'échantillon avance un peu à chaque prise de vue, tandis que le système optique reste fixe lors de ce balayage.

Les microscopes avec la technique des rayons ou du miroir : le point de lumière se déplace sur l'échantillon fixe et le parcourt par balayage point par point à l'aide de petits miroirs rapides, activés par des galvanomètres, comme chez LEICA.

Le système LEICA TCS SP2 permet de représenter un plan focal unique ainsi que toute une série de plans (horizontaux ou verticaux). Une intersection verticale unique, ou le balayage xz, permet de visualiser latéralement l'échantillon.

Si une succession d'intersections optiques est rassemblée via l'échantillon en une pile d'images puis traitée numériquement, ceci présente l'avantage de pouvoir produire, à partir d'un bloc de données en plusieurs dimensions soit une image calculée en deux dimensions (Projection) ou une représentation graphique réduite en 3D de l'échantillon sur un ordinateur adapté.

7.2. Pouvoir séparateur (résolution) optique

Le concept de résolution se rapporte à la faculté de distinguer les détails les plus fins d'une structure. Dans le cas d'un microscope idéal, le système optique serait complètement exempt de tout type d'aberration. Dans le cas d'un tel instrument hypothétique, le pouvoir séparateur ne serait limité que par la diffraction. Celle-ci se traduit par la plus petite distance séparant deux points encore distinguables dans un échantillon (critère de Rayleigh). Au-delà de cette limite, les deux points fusionnent (c.-à-d. que les disques de réfraction se superposent entièrement ou partiellement) et ne peuvent plus être distingués comme deux points distincts. Cette distance peut être calculée à partir de la taille de l'image de diffraction d'un point infinitésimal de l'échantillon. Elle correspond au rayon de premier minimum dans cette image de diffraction. Elle est de nouveau en rapport avec l'ouverture numérique de l'objectif et du condenseur. Cette ouverture numérique est définie par l'indice de réfraction de la lentille et la taille du cône lumineux, qu'elle peut pénétrer.

De la même façon que pour l'argumentation conduite ci-dessus, la résolution axiale peut être définie comme étant le rayon du premier minimum le long de l'axe de microscope de l'image de diffraction d'un objet de point. Conformément à la théorie pour ce genre d'images de diffraction en 3D, le pouvoir séparateur optique le long de l'axe des z est deux plus faible que le pouvoir séparateur optique latéral. La résolution optique le long de l'axe des z correspond ainsi à environ la moitié de la résolution à l'intérieur du plan focal.

Le microscope LEICA TCS SP2 est un véritable système de balayage point par point doté d'une très haute sensibilité et d'une résolution x, y et z théoriques, qui n'accepte aucun compromis.

La résolution de balayage se rapporte à la netteté d'image, déterminée par le nombre et la taille des pixels. Plus le nombre de pixels est élevé et plus le format de balayage est

grand, plus il est facile de différencier deux objets situés l’un à côté de l’autre. La résolution du balayage est limitée par le pouvoir séparateur optique maximum.

7.3. Détection

La représentation à foyer commun, ou plus exactement la mesure des propriétés optiques de très petites quantités d’échantillon n’est pas uniquement limitée par la qualité optique du microscope. Les autres limites sont :

- Les échantillons continus sont mesurés uniquement par petits échantillons (à cause du prélèvement d’échantillon et du traitement numérique).

- L’exactitude avec laquelle ces petits échantillons sont définis est déterminée par le mécanisme du balayage.

- L’intensité de la source lumineuse en rapport avec le pouvoir de réflexion de l’échantillon.

- La sensibilité et le bruit du détecteur.

Le détecteur est également un composant central du microscope à foyer commun. En raison de leur rapport signal/bruit très élevé, LEICA Microsystems Heidelberg utilise des photomultiplicateurs en guise de détecteurs.

7.4. Traitement de l'image

Dans les premiers microscopes à foyer commun, le détecteur était relié à un oscilloscope phosphorogène, et l'image s'affichait au cours du balayage. Dans les appareils actuels, le signal est d'abord numérisé puis affiché par un ordinateur. De ce fait, il existe maintenant une possibilité de modifier de nombreuses façons l'image affichée. Les possibilités sont les suivantes :

- Renforcement du contraste par la valeur de seuil, extension linéaire du contraste et correction gamma (tracé de la courbe de la valeur d'intensité de l'image par rapport à la représentation graphique de l'intensité de base).

- Eclairage double des images dans les expériences.

- Filtres numériques pour agrandir les bords, lisser et supprimer les parasites, etc.

- Reconstruction d'images en 3D à l'aide d'intersections optiques composées de superposition d'images. Ceci permet par exemple de reconstruire une image d'un niveau xz à l'aide d'une superposition d'images de niveau xy. De plus, un modèle en 3D de l'échantillon peut être créé et examiné dans n'importe quelle direction.

- Composition de films numériques à l'aide des séries d'instants enregistrées avec le microscope.

- Quantification et mesures

Cette forme de traitement d'image n'augmente pas la qualité des données recueillies ; elle sert à améliorer la vision et à faciliter l'interprétation qualitative des données.

7.5. Source lumineuse

Les lasers s'adaptent remarquablement à la microscopie à foyer commun, car ils donnent une lumière très claire et leur rayon présente une divergence très faible. De plus, ils sont faciles à focaliser et leur intensité est stable. C'est précisément cette stabilité qui est significative pour les mesures quantitatives.

7.6. Intégration

Le Leica TCS SP2 a été conçu comme un système intégral. Tous les éléments optiques et mécaniques travaillent ensemble et sans temps mort avec le matériel et le logiciel informatique. Le logiciel faisant partie du système Leica Confocal Software assiste l'ensemble du processus de création d'image qui commence par l'intersection optique et qui va jusqu'au traitement et à l'analyse de l'image (l'extension principale dans le logiciel) jusqu'à l'impression par une imprimante de l'image créée.

8. Mise en service du système à foyer commun

1. Vérifiez si la clé de protection du logiciel est bien enfichée sur le port parallèle de votre ordinateur.

   Sans cette clé, le logiciel LCS Software NE démarre PAS.

2. Allumez le(s) microscope(s) et les sources d'éclairage.

   Tous les supports de microscope manuels Leica (DM-LM, DM-R, DM-LFSE) peuvent être allumés et éteints au moyen des commutateurs se trouvant sur les côtés du support.

   Tous les supports automatisés des microscopes Leica (DM-LFSA, DM-RXA, DM-RXA2, DM-RE, DM-IRBE) peuvent être allumés et éteints au moyen des commutateurs se trouvant sur les côtés du support.

   Les supports de microscope Leica DM-LFSA, DM-IRE2 et DM-RXA2 peuvent être allumés et éteints au moyen de l'unité électronique (LEICA CTR MIC Electronics box) séparée.



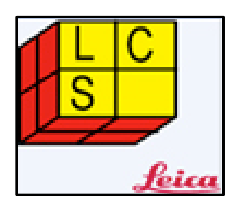
Toutes les lampes à fluorescence sont équipées d'un propre bloc d'alimentation. Elles ne peuvent être allumées et éteintes qu'au moyen de ce bloc d'alimentation.



3. Sur le pavé de commande, allumez les commutateurs de l'ordinateur (PC), du scanner à foyer commun (Scanner) et des lasers (Lasers).

4. Annoncez-vous dans le système.

   Si un nom d'utilisateur vous a déjà été attribué, utilisez celui-ci. Ceci vous permet d'appliquer vos paramètres spécifiques. Si l'administrateur du système n'a pas encore créé de nom d'utilisateur pour vous, annoncez-vous en utilisant «TCS_User». Il n'est pas nécessaire d'entrer de mot de passe.



5. Exécutez le logiciel LCS.

Pour exécuter ce logiciel, cliquez sur l'icône correspondante affichée sur le bureau du système d'exploitation.



6. Sélectionnez à présent un profil logiciel.Un profil spécifique est créé pour chaque utilisateur, comprenant aussi bien l'organisation de la surface utilisateur graphique que la définition des paramètres spécifiques à l'utilisateur du système à foyer commun.



Attendez la prochaine étape que l'initialisation des composants de matériel soit complètement terminée.

7. Placez un échantillon et disposez l'échantillon dans le mode microscopique classique.

   Effectuez d'abord une mise au point sur un endroit de l'échantillon que vous souhaitez observer. Réglez ensuite l'éclairage Köhler (voir le chapitre «Eclairage Köhler»).

Réglage pour l'observation conventionnelle avec les microscopes droits de la série DM-Rxxx, DM-LFxx

- Tourner la molette du filtre de fluorescence jusqu'à la position souhaitée (figure/pos. 1).

  1: DAPI (optional)
  2: TRITC
  3: FITC
  4: Position à vide (Scan)

- Mettre le levier de commande en position «VIS » (figure/pos. 2).

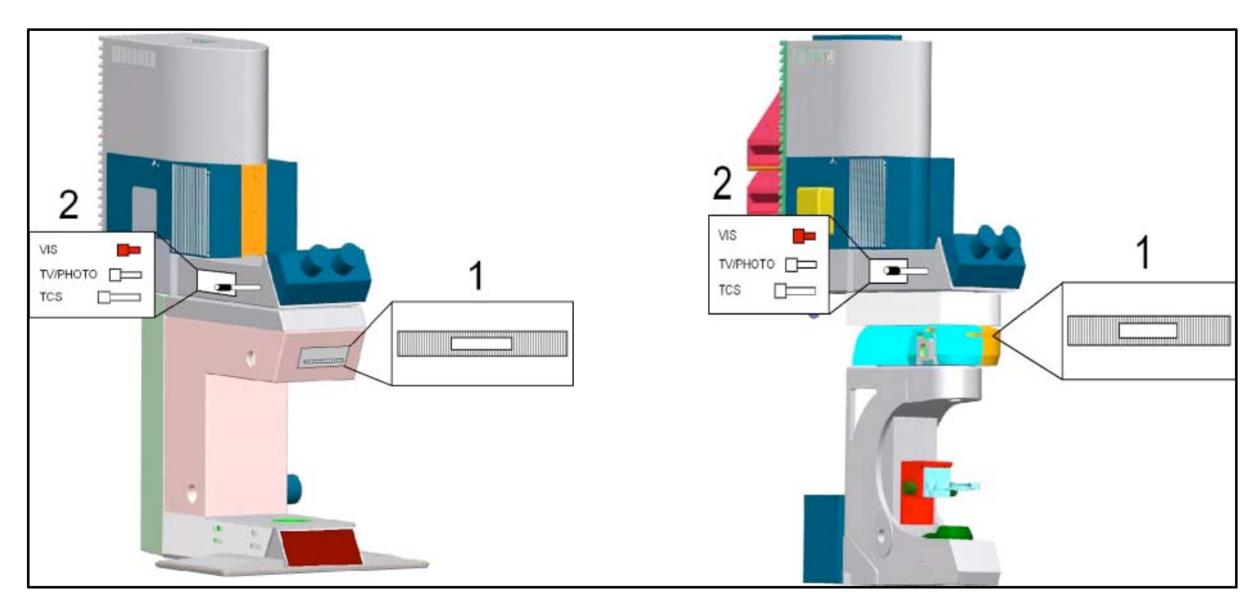


Figure 23: Série de microscopes DM_Rxx (à gauche), série de microscopes DM-LFSx (à droite)

Réglage pour l'observation conventionnelle avec les microscopes inverses de la série DM-IRxx

- Tourner la molette du filtre de fluorescence jusqu'à la position souhaitée (figure/pos. 1).
  1: DAPI (optional)
  2: TRITC
  3: FITC
  4: Position à vide (Scan)
- Sortir entièrement le levier de commande (figure/pos. 2).
- Mettre le changeur de lentille tubulaire en position «Scan» (statifs VIS) (figure/pos. 3).
- Insérer complètement le levier de commande pour la répartition optique de la sortie latérale (position «off») (figure/pos. 4).
- Insérer complètement le levier de commande pour la répartition optique de la sortie antérieure (position «off») (figure/pos. 5).

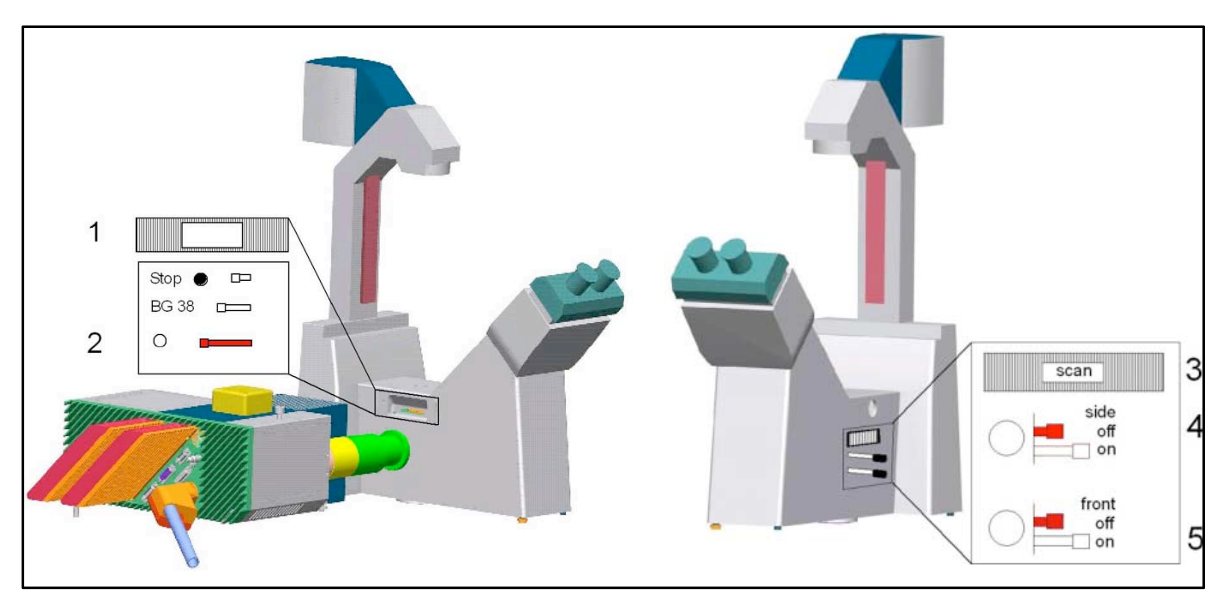
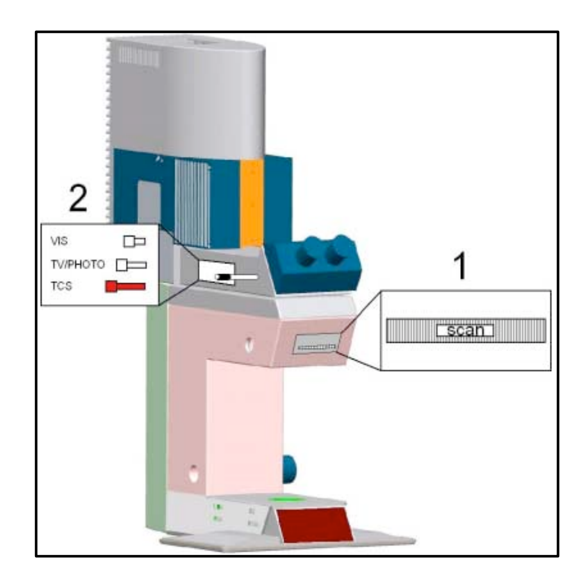


Figure 24: Série de microscopes DM_IRxx

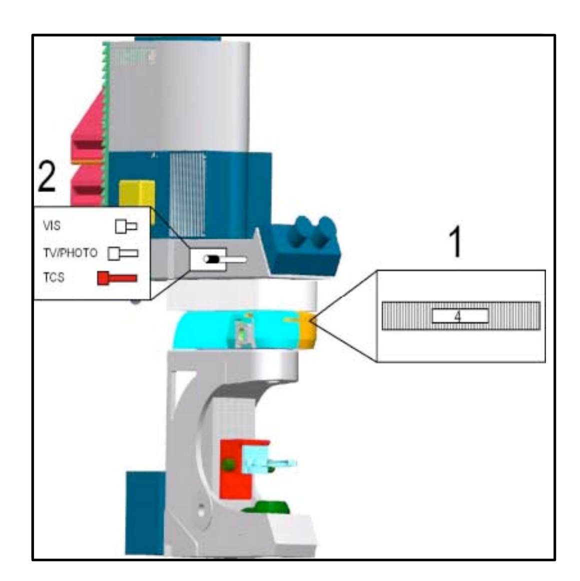
8. Activez le mode à foyer commun.

Changement en mode d'observation à foyer commun avec les microscopes droits de la série DM-Rxxx, DM-LFxx



- Tourner la molette du filtre de fluorescence jusqu'à la position «VIS » (figure/pos. 1).
- Sortir entièrement le levier de commande (position "TCS") (figure/pos.2).

Figure 25: Série de microscopes DM_Rxx



- Tourner la molette du filtre de fluorescence jusqu'à la position «4 » (figure/pos. 1).
- Sortir entièrement le levier de commande (position "TCS") (figure/pos.2).

Figure 26: Série de microscopes DM-LFSx

Changement en mode d'observation à foyer commun avec les microscopes inverses de la série DM-IRxx

- Tourner la molette du filtre de fluorescence jusqu'à la position « Scan » (figure/pos. 1).
- Insérer entièrement le levier de commande (position "Stop") (figure/pos.2).
- Mettre le changeur de lentille tubulaire en position «Scan» (figure/pos. 3).
- Sortir complètement le levier de commande pour la répartition optique de la sortie latérale (position «on») (figure/pos. 4).
- Insérer complètement le levier de commande pour la répartition optique de la sortie antérieure (position «off») (figure/pos. 5).

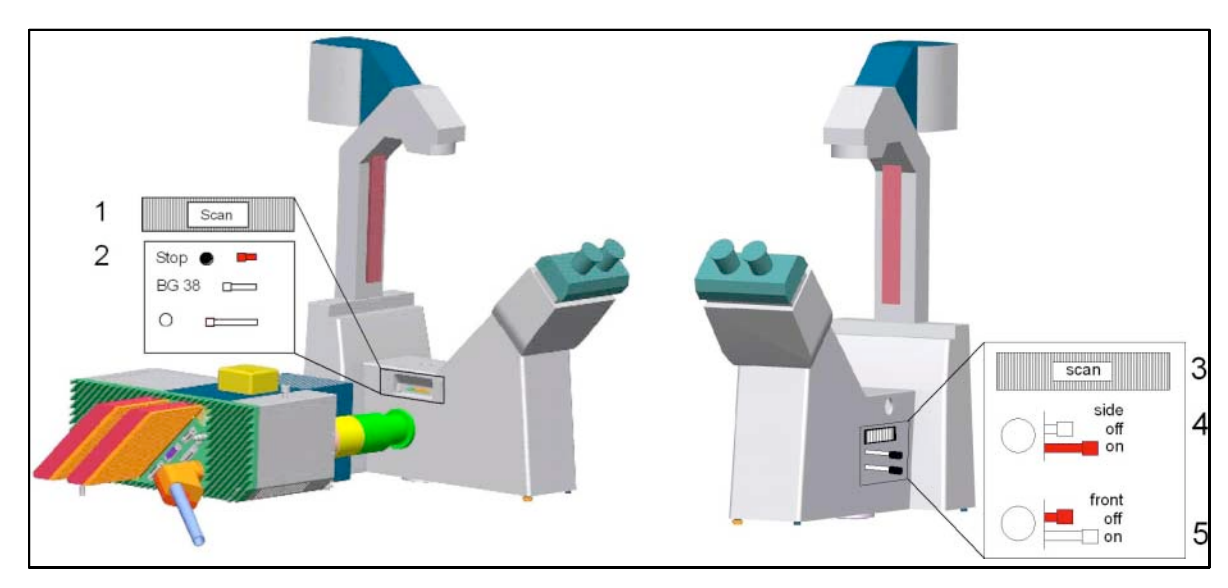
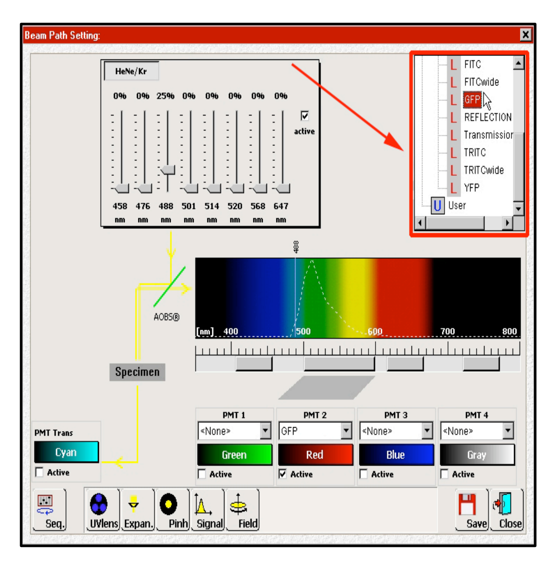


Figure 27: Série de microscopes DM_IRxx

9. Sélection d'un jeu spécifique de paramètres d'enregistrement (application).





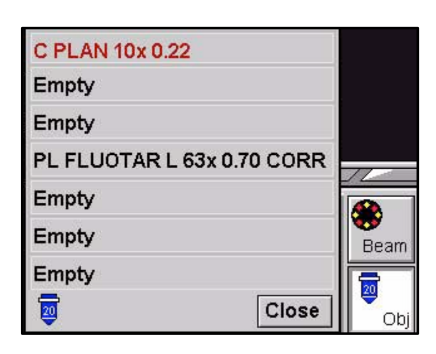
- Appuyez sur la touche «Beam» dans l'étape de travail «Acquire».

- Sélectionnez une méthode dans la fenêtre de dialogue ouverte «Beam Path Setting» (fenêtre supérieure droite)



Un jeu de paramètres matériel est compri sous Methode (IPS: Instrument Parameter Setting) qui est spécifique à la technique d'enregistrement et à la nature spéciale de la préparation de l'échantillon. Les abréviations FITC/TRITC désignent par exemple les réglages pour un enregistrement dans deux canaux (simultanément) pour les deux couleurs fluorescentes FITC et TRITC). A côté des méthodes par défaut définies au départ usine, il est évidemment possible de définir et de mémoriser des méthodes personnalisées. Voir à ce sujet le chapitre «Configuration personnalisée du logiciel».

10. Sélection de l'objectif du microscope.

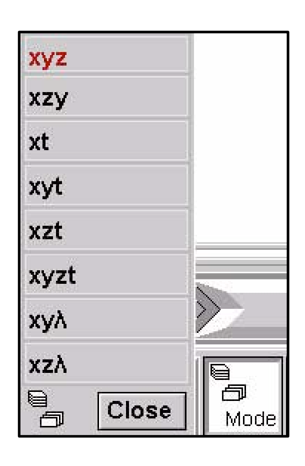


- Appuyez sur la touche «Obj.» dans l'étape de travail «Acquire».
- Sélectionnez dans la fenêtre de dialogue ouverte l'objectif que vous voulez utiliser.

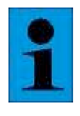


Pour les statifs de microscopes automatisés, l'objectif du microscope sélectionné est automatiquement amené dans le trajet optique. Pour les autres statifs, ceci doit être effectué à la main .

11. Sélection du procédé de balayage.



- Appuyez sur la touche «Mode» pour sélectionner le procédé de balayage.

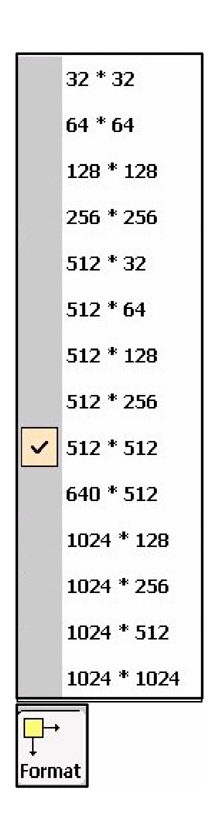


A l'aide du procédé de balayage, réglez le type de superposition d'images à enregistrer. Vous pouvez choisir entre

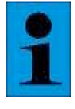
- un balayage spatial (xyz, xzy)
- un balayage temporel (xt, xyt, xzt, xyzt)
- un balayage spectral (xyλ, xzλ).



12. Sélection du format de balayage.



- Appuyez sur la touche «Format» pour sélectionner le format de balayage.



Avec le format de balayage, vous déterminez le nombre de points de la matrice, que le scanner va lire dans le champ de balayage.

13. Optimisation des paramètres d’enregistrement dans le balayage infini.



- Appuyez sur la touche «Continuous» pour démarrer le balayage infini. Dès que le balayage infini est lancé, vous pouvez optimiser la qualité d’image à l’aide du tableau de commande et de ses paramètres d’enregistrement définis.

Les paramètres d’optimisation regroupent :

- la position exacte Z au sein de l’échantillon
- le facteur de grossissement du détecteur sélectionné
- le diamètre du diaphragme de détection
- le facteur de zoom.

14. Enregistrement d’un bloc de données tridimensionnel, spatial (série 3D)

    Cherchez la limite supérieure du bloc de données que vous voulez enregistrer.

    Utilisez pour cela la tête correspondante en réglage de position Z du tableau de commande.



Le réglage de la position Z se trouve de façon standard sur la position 7 du tableau de commande

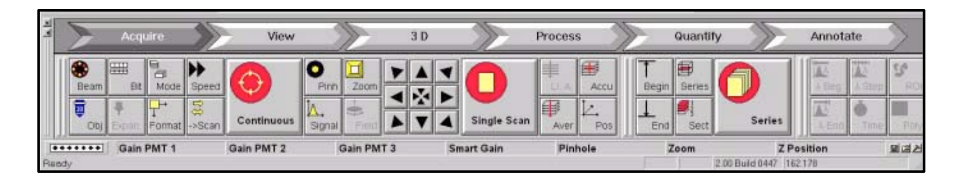
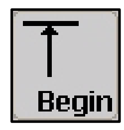
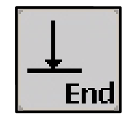


Figure 28: Affectation standard du tableau de commande (partie inférieure de l’écran)



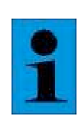
- Appuyez sur la touche «Begin» pour définir le point de départ de la série 3D.
- Cherchez la limite inférieure du bloc de données que vous voulez enregistrer. Utilisez pour cela la tête correspondante en réglage de position Z du tableau de commande.



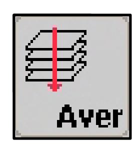
- Appuyez sur la touche «End» pour définir le point final de la série 3D.
- Arrêtez maintenant le balayage continu en appuyant encore une fois sur la touche «Cont.».



- Appuyez sur la touche «Sect.» pour définir le nombre d’intersections optiques.



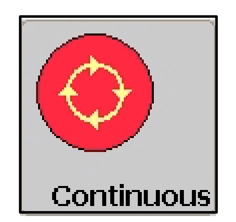
Vous pourrez trouver d’autres détails sur cette fonction dans l’aide en ligne.



- Appuyez sur la touche «Aver.» pour définir le nombre de processus de moyenne (Frame-Average).



Avec ce procédé, les enregistrements transmis sont ceux d’une seule intersection optique.



- Appuyez maintenant sur la touche «Series» pour enregistrer la série 3D.

15. Enregistrement des données d’image

Choisissez la ligne de menu ***File->Save as*** pour enregistrer le bloc de données.



Pour les détails supplémentaires sur l’enregistrement des blocs de données et sur les formats d’enregistrement, voir le chapitre «Ouvrir et sauvegarder des enregistrements de données».

9. Démarrage du système d’exploitation

Le système d’exploitation démarre automatiquement, dès que vous allumez votre ordinateur. Un écran d’accueil s’affiche d’abord.

1. Accédez à votre ordinateur. Comme indiqué dans le champ de dialogue affiché, accédez au système en appuyant simultanément sur les touches Ctrl, Alt et Delete. Après avoir appuyé sur les touches Ctrl, Alt et Delete, le champ de dialogue d’information Login s’ouvre.

2. Entrez votre mot de passe, qui vous identifie comme l’utilisateur actif de l’ordinateur.

   Le nom d’utilisateur standard du système Leica TCS SP2 est «TCS_User».

   Un mot de passe par défaut n’est pas défini. Il est conseillé de créer un nom d’utilisateur pour chaque utilisateur du système (administrateur de système). Des répertoires personnels sont créés, qui ne peuvent être ouverts que par l’utilisateur concerné. Comme le logiciel LCS est basé sur la gestion utilisateur du système d’exploitation, des fichiers personnels sont aussi constitués pour la gestion des profils spécifiques aux utilisateurs du logiciel LCS. Pour créer et administrer les utilisateurs, consultez le chapitre «Création des utilisateurs» de ce manuel.

3. Une fois que vous vous êtes enregistré avec votre code utilisateur, vous pouvez modifier votre mot de passe. Pour cela, appuyez simultanément sur les touches Ctrl, Alt et Delete.

4. Cliquez ensuite sur Change password. Un champ de dialogue s’ouvre : Change password.

5. Dans le champ Old Password, entrez votre mot de passe actuel (le champ de saisie du mot de passe distingue les majuscules et les minuscules, faites donc attention à utiliser les bons caractères).

6. Appuyez ensuite sur la touche du tabulateur. En appuyant sur la touche du tabulateur, le curseur saute dans le champ suivant.

7. Entrez votre nouveau mot de passe, et appuyez ensuite encore une fois sur la touche du tabulateur. Entrez une nouvelle fois votre nouveau mot de passe pour confirmation. Des fautes de frappe sont ainsi exclues. Ceci est d’autant plus important que les caractères que vous tapez apparaissent à l’écran sous forme d’étoile.

8. Cliquez ensuite sur OK. Votre nouveau mot de passe est désormais valide pour votre prochain accès.

9.1. Création des utilisateurs

1. Connexion comme administrateur.

   Inscrivez-vous en tant qu'administrateur. Utilisez pour cela l'ID : «Administrator» et le mot de passe :«Admin»

2. Ouvrez le User-Manager.

   Sélectionnez Start/Programs/Administrative Tools/User Manager.

3. Définissez un nouvel utilisateur.

   Dans la boîte de dialogue affichée, entrez les indications suivantes :

   - Nom de l'utilisateur (Username)
   - Mot de passe (Password) (le mot de passe doit être confirmé dans la ligne suivante)

4. Parmi les cases à cocher, sélectionnez les deux cases ci-dessous :

   a.) «User must change password at next logon» (afin que le nouvel utilisateur puisse définir son propre mot de passe pour l'enregistrement)

   b.) «Password never expires» (le mot de passe reste valable jusqu'à ce qu'il soit modifié dans User Manager ou effacé par l'utilisateur)

5. Sélectionnez dans le bas de page du dialogue l'option «Profiles». Entrez ici dans le champ «Local path» le chemin à suivre pour ranger les fichiers spécifiques aux utilisateurs : d:\users\username («username» est un paramètre fictif. A cet endroit, il faut en effet entrer un nom d'utilisateur défini.)



Les disques durs montés en atelier sont livrés avec 2 partitions (C:\ etD:\). Le répertoire utilisateur doit être placé sur la partition D:\.

10. Principe de l’éclairage Köhler

Dans une image au microscope, on ne peut cerner qu’une seule zone d’un échantillon à la fois (champ de l’image). L’éclairage Köhler permet d’éclairer cette zone précise. Le principe de l’éclairage précis du champ de l’image est le suivant :

Si la zone éclairée est plus petite que le champ de l’image, le cône de lumière perçu par l’objectif devient plus petit et donc aussi l’ouverture numérique. Comme le pouvoir de résolution optique dépend directement de l’ouverture numérique, la résolution optique diminue quand l’éclairage est faible – ce qui est un effet indésirable dans la plupart des cas.

Si la zone éclairée est plus grande que le champ de l’image, le résultat est une augmentation de la lumière parasite. A son tour, ceci entraîne une réduction du contraste de l’image. L’une des conséquences possibles est que la résolution optique est trop mauvaise pour observer les structures de l’image microscopique.

L’éclairage Köhler représente un compromis entre le contraste maximal et le pouvoir de résolution maximal. Les objectifs de microscope les plus puissants n’atteignent souvent le meilleur résultat optique que si l’éclairage de l’échantillon est optimisé.

10.1. Réglage de l'éclairage Köhler

1. **Mise au point**

Mettez au point la zone de votre échantillon pour laquelle vous vous intéressez. Ne vous souciez pas encore de la qualité de l'image.

2. **Ouverture du diaphragme d'ouverture**

Ouvrez entièrement le diaphragme d'ouverture. Il sera plus tard refermé jusqu'à ce que le contraste souhaité soit atteint.

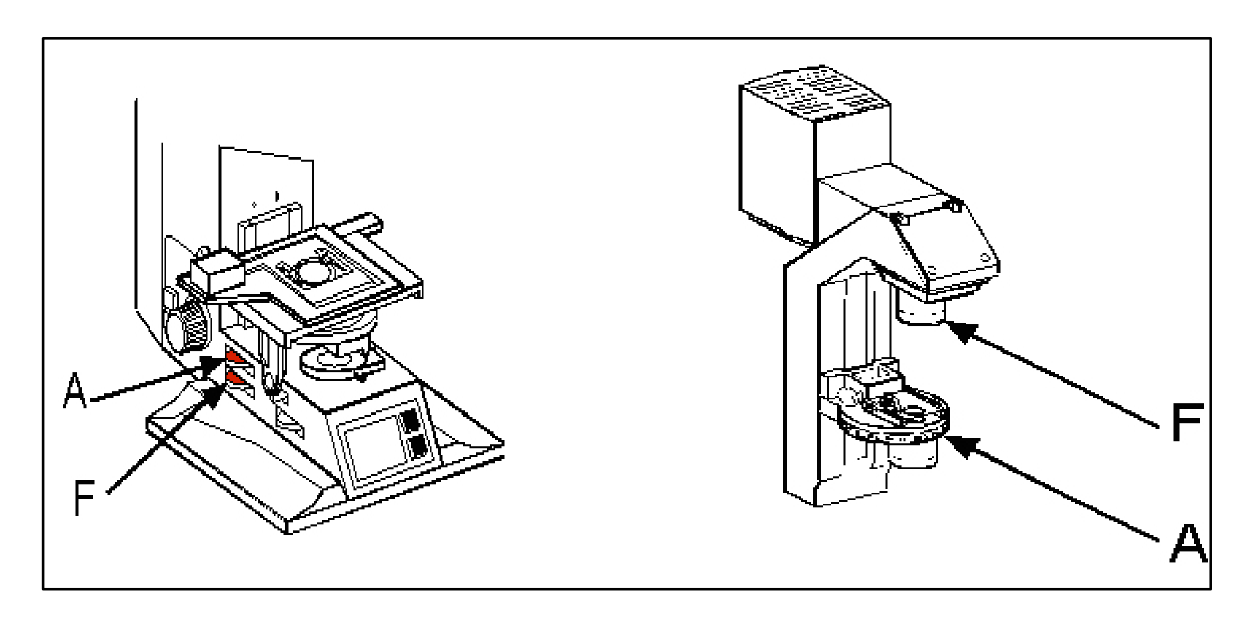


Figure 29: DM-Rxx (à gauche) / DM-IRxx (à droite)

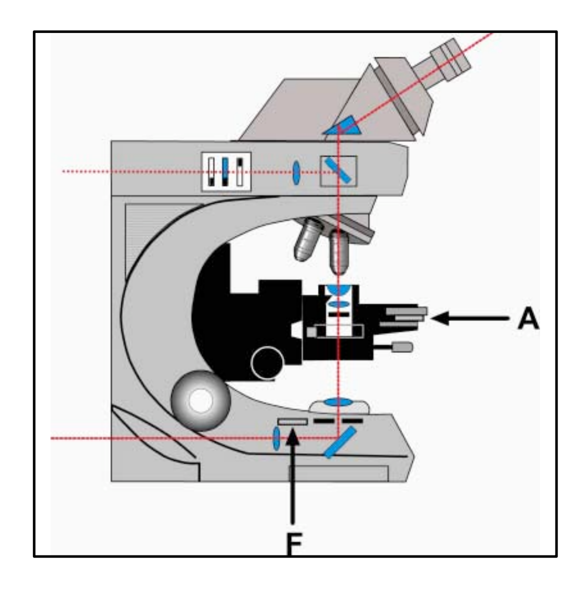
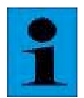


Figure 30: DM LFS/ LSFA

3. **Fermeture du diaphragme de champ**

Quand on ferme le diaphragme de champ, la plupart des zones de l'image s'assombrissent. Vous verrez une tache de lumière floue. Si cette tache de lumière disparaît quand vous fermez le diaphragme de champ, recentrez le diaphragme de champ. Dans ce cas, rouvrez le diaphragme de champ jusqu'à ce que la tache de lumière apparaît au bord de votre champ de vision.



Si vous ne voyez pas de tache de lumière, le condenseur est probablement réglé à une mauvaise hauteur. Réglez la hauteur du condenseur jusqu'à ce que vous apercevez le diaphragme de champ.

4. **Mise au point**

Mettez au point avec précision le bord de la tache de lumière en modifiant la hauteur du condenseur.

5. **Centrage**

Tournez les vis de centrage du condenseur jusqu'à ce que la tache de lumière au milieu du champ de vision soit centré. Le centrage est plus simple si vous ouvrez un peu le diaphragme de champ pour agrandir la tache de lumière.

6. **Ouverture du diaphragme de champ**

Ouvrez le diaphragme de champ jusqu'à ce que la tache de lumière disparaisse juste au bord du champ de l'image.

7. **Fermeture du diaphragme d'ouverture**

Fermez le diaphragme d'ouverture jusqu'à ce que le contraste souhaité de l'image soit atteint (ouverture à env. 70% du diamètre maximal).

8. **Après un changement d'objectif**

Il peut être nécessaire de régler l'éclairage Köhler après un changement de l'objectif.

11. Eteindre le système

1. Enregistrez les données d'image.
   Choisissez la ligne de menu File / Save as pour enregistrer le bloc de données.
2. Terminez le logiciel LCS.
   Sélectionnez File /Exit dans la barre de menu pour quitter le logiciel.



3. Sur le pavé de commande, éteignez les commutateurs du scanner à foyer commun (Scanner) et des lasers (Lasers).



4. Arrêtez et éteignez l'ordinateur.

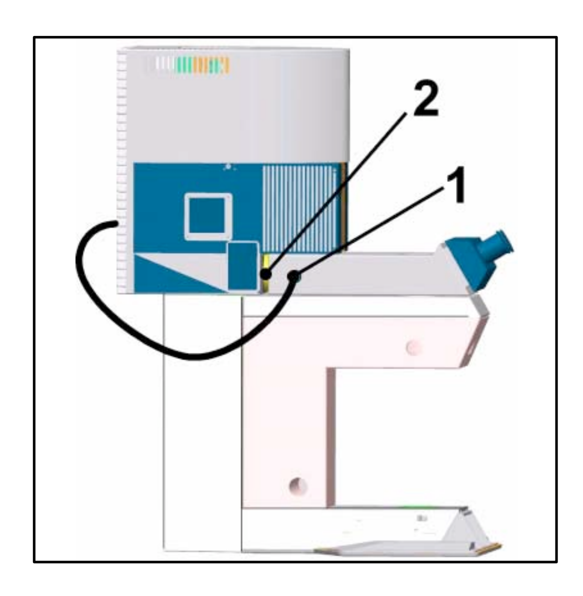
Sélectionnez Démarrer / Arrêter le système dans la barre Windows.

Figure 31: Arrêt du système

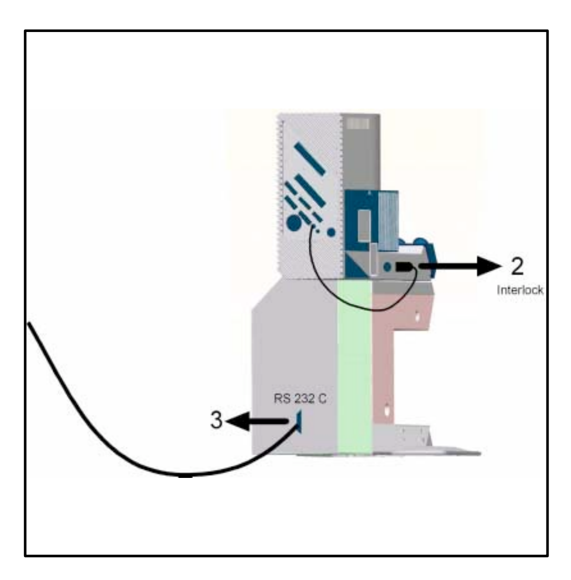
5. Eteignez le microscope et toutes les lampes à fluorescence.

12. Changement du scanner sur un autre statif de microscope Leica

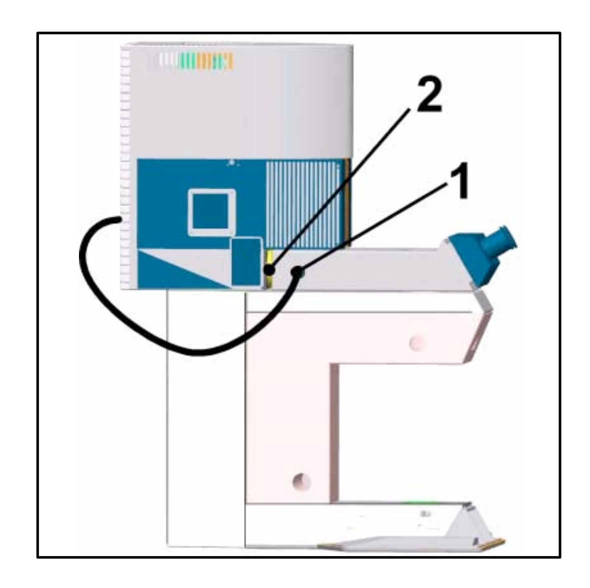
1. Arrêtez complètement le système.



2. Déconnectez le câble du commutateur de sécurité du laser sur le tube du microscope.Voir l'étape (1) dans l'illustration suivante :



3. Déconnectez le câble RS 232 à l'arrière du microscope.Voir l'étape (3) dans l'illustration suivante :



4. Déserrez la vis à six pans creux entre le scanner et le tube.Voir l'étape (2) dans l'illustration suivante : Utilisez à cet effet une clé à six pans de 3mm.

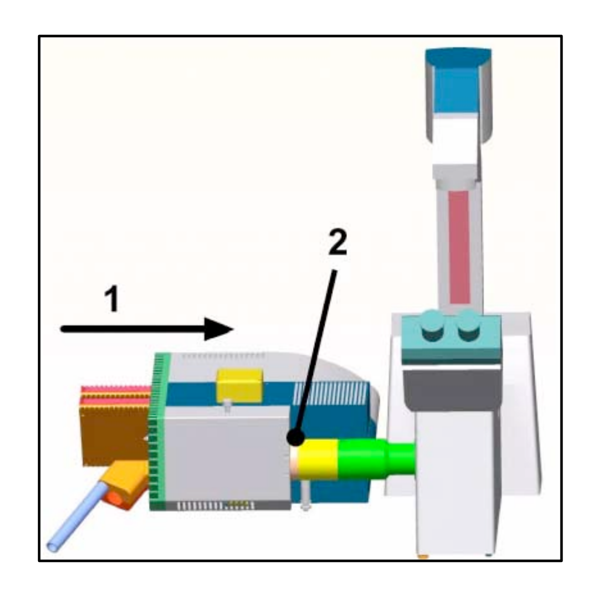


Dans le cas des microscopes équipés d'un boîtier de commande électronique séparé (unité électronique LEICA CTR MIC), le câble RS 232 n'est pas à déconnecter du statif du microscope mais de cette unité électronique.

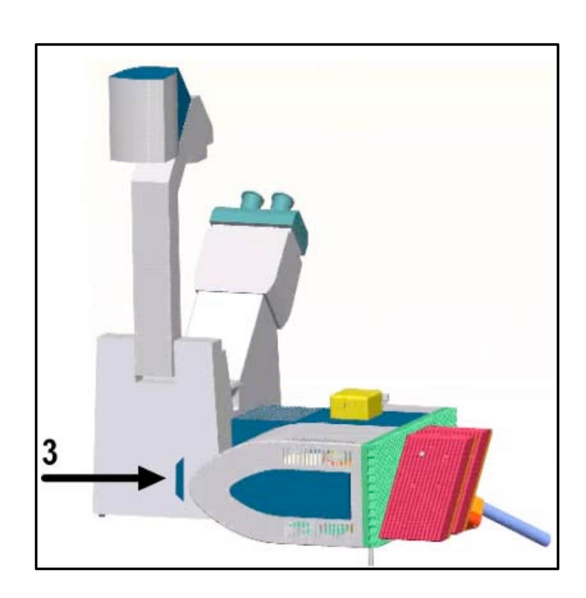
5. Enlevez la tête de balayage avec précaution en la retirant vers l'arrière.



La tête de balayage pèse environ 13 kg. Manipulez-la avec beaucoup de précaution pour éviter de l'endommager pendant l'opération.



6. Procédez à la pose de la tête de balayage sur le nouveau statif suivant l'illustration suivante.
7. Tournez la tête de balayage de 90° et appliquez-la contre le tube dans le sens de la flèche (1).



8. Fixez la tête de balayage au moyen de la vis à six pans creux.Voir (2) dans l'illustration ci-dessus.

9. Branchez le connecteur RS 232 à l'arrière du microscope.Voir (3) dans l'illustration ci-dessus.



Dans le cas des microscopes équipés d'un boîtier de commande électronique séparé (unité électronique LEICA CTR MIC), le câble RS 232 n'est pas à déconnecter du statif du microscope mais de cette unité électronique.

13. Le logiciel Leica Confocal Software

13.1. Démarrage du logiciel

13.1.1. Conditions pour démarrer le logiciel

Le logiciel LCS dispose d'un système de protection qui garantit que chaque licence vendue de logiciel ne peut pas être utilisée sur deux ordinateurs à la fois. Ce système de protection déconnecte aussi un ensemble de paquets d'applications achetées en plus. Le système de protection se compose d'un clé pour le matériel (un dongle), qui doit s'enficher dans le port parallèle de l'ordinateur. La fonctionnalité du port parallèle (par ex. pour commander l'imprimante) n'est pas altérée. Si vous utilisez un autre ordinateur pour activer une deuxième installation, alors il faut mettre le dongle sur le port parallèle du deuxième ordinateur.

Dès que le dongle est retiré de l'ordinateur du système à foyer commun, le logiciel ne peut plus être démarré. Cela signifie que le système à foyer commun ne peut plus être activé.

Le logiciel LCS peut être démarré en deux modes, le mode matériel et le mode de simulation. En mode matériel, l'ensemble des composants matériels est appelé et initialisé par le logiciel. Pour cette raison, il vous faut démarrer en mode matériel le matériel puis après 20 secondes le logiciel.

En mode de simulation, le logiciel fonctionne complètement sans matériel. Ce mode de fonctionnement est approprié sur une deuxième installation, à des fins de formation ou pour analyser hors ligne des blocs de données déjà enregistrés.

13.1.2. Procédure pour démarrer le logiciel

Sélectionnez Start /Programs/Leica Confocal Software.

L'écran de démarrage du logiciel Leica Confocal Software s'ouvre. Dans cette fenêtre, vous pouvez choisir parmi 3 profils.

- **Company**

Avec cette option, le Leica Confocal Software démarre avec les paramètres installés en usine. Cela signifie que la configuration et la position de la barre d'outils sont fixes. Ces paramètres ne peuvent pas être modifiés.

- **Personal**

Avec cette option, vous pouvez utiliser un profil de paramètres spécifique aux utilisateurs. Le nom de l'utilisateur dépend à nouveau du compte sous lequel s'est inscrit l'utilisateur dans le système d'exploitation. Si au démarrage il n'y a pas encore de profil de paramètres correspondant à l'utilisateur, le profil personnel automatiquement utilisé est le profil des paramètres standard réglé en usine.

- **Last Exit**

Avec cette option, c'est le dernier profil usité qui est utilisé.

Pour les plus avancés :

Si vous disposez de plusieurs profils de paramètres, vous pouvez les charger au démarrage, lorsque vous appuyez avec le pointeur de la souris sur le bouton avec les 3 petits points noirs (se trouve en bas à droite des options de profil). Vous pouvez ici passer de votre profil personnalisé actuel au profil standard avec les paramètres réglés en usine.

En appuyant sur le bouton Démarrer, le Leica Confocal Software démarre avec le profil de paramètres correspondant.

Le logiciel démarre aussi tout seul après un certain temps sous l'utilisation du profil de paramètres sélectionné.

13.1.3. Concept du logiciel conçu pour les expériences

Le Leica Confocal Software permet de rassembler par groupes des données d'image ou des résultats de séquences de traitement d'image. Un groupe est appelé «Experiment» et enregistré dans un format spécial de données (*.lei). Ainsi, les données d'image originale de l'expérience peuvent être rangées avec les données de représentation d'image.

Vous trouverez d'autres détails au chapitre «Organisation de données en groupant des expériences».

13.1.4. Organisation principale de la surface utilisateur

L'aspect de la surface utilisateur graphique - abrégée ci-après par GUI (Graphical User Interface) - dépend très fortement du profil de paramètres utilisé. Pourtant, la GUI dispose d'une série d'éléments standard.

La GUI dispose des éléments standard suivants :

- **La barre de menus**

On y trouve les catégories File, View, Macro, Tools, Window ainsi que Help. Au sein de ces catégories, vous trouverez des commandes et des informations pour la représentation générale, le paramètre et l'adaptation à l'utilisateur. Elle ne comprend pas de fonctions pour commander directement les fonctions du scanner. Celles-ci se trouvent dans le menu TCS (View/Menu/TCS-Menu). La barre de menus elle-même ne peut pas être configurée.

- **La fenêtre de vue d'ensemble (TCS_Viewer)**

Elle affiche des données d'image, des conditions expérimentales ainsi que des informations concernant l'utilisateur. La fenêtre d'image peut être configurée (voir

chapitre «Modification de la surface utilisateur et définition des paramètres spécifiques aux utilisateurs»). La fenêtre d'imagemontre pas que des blocs de données à foyer commun mais aussi des données expérimentales comme le paramétrage du système. Une fenêtre d'image peut être ouverte pour une nouvelle expérience via File / New.

- **Menu TCS (TCS_Menu)**

Le menu TCS comprend les boutons de chaque fonction de l'appareil. Il est divisé en séquences de travail individuelles. Selon l'équipement du logiciel, le nombre des séquences de travail peut varier. Le bloc standard des séquences de travail se compose d'un enregistrement d'image (Acquire), de la représentation d'image (View), de la reconstruction de la surface (3 D), des fonctions de mesure (Quantify), des fonctions de traitement et d'analyse d'image (Process) ainsi que des applications (Applications). Si le menu TCS n'est pas affiché dans le profil de paramètres actuel, vous pouvez l'activer/le désactiver via View / Menu / TCSMenu.

- **Barre d'outils (toolbar)**

Dans cette zone, des touches individuelles (boutons de fonction) peuvent être introduites et disposées selon les besoins de l'utilisateur. L'avantage de la barre d'outils réside principalement dans le fait qu'elle s'active et se désactive avec le contenu général des fenêtres de la barre. Pour cela, suivez : View / Menu / Container.

- **Fenêtre de vue d'ensemble pour les documents (Experiment Overview)**

Elle représente les expériences enregistrées ainsi que leurs contenus sous forme d'arborescence. La fenêtre de vue d'ensemble peut être ouverte par View / Experiment Overview.

- **Barre d'état (Statusbar)**

La barre d'état se trouve sur le bord inférieur de la surface utilisateur du Leica Confocal Software. Elle affiche :

- La progression de chargement des données d'image (indicateur d'état)

- Le numéro de version du logiciel

- La dénomination de la configuration des machines (type de système)

Pour les détails de fonctions particulières du logiciel, consultez le chapitre «Les fonctions du logiciel LCS».

13.2. Ouvrir et sauvegarder des enregistrements de données

13.2.1. Formats lisibles de fichier

Les formats de fichier suivants peuvent être ouverts et lus par le Leica Confocal Software.

- **Expériences (*.lei) :**

Il s'agit ici d'un format binaire de données spécifique à Leica. Ce format est prévu pour des données d'expériences complètes.

- **Fichiers TIFF (*.tif) :**

Il s'agit ici de fichiers d'image Leica en format TIFF Single et Multi. Il peut également lire des fichiers d'image utilisés par les formats TCS précédemment utilisés ainsi que des données externes en format RGB-TIFF.

- **Annotation (*.ano) :**

Il s'agit aussi ici d'un format binaire de données spécifique à Leica. Il sert à enregistrer des pages de présentation (annotations). Les éléments présents dans les pages de présentation comme les images, les textes et les graphiques se présentent à chaque fois comme des objets individuels.

En lisant les fichiers, les données d'image ainsi que les paramètres de l'expérience sont enregistrés.

13.2.2. Prise en charge automatique des paramètres d'enregistrement

Le Leica Confocal Software permet d'enregistrer les paramètres du matériel mémorisés avec les expériences ou les images individuelles. Un enregistrement d'expériences diverses en gardant les mêmes paramètres peut ainsi être effectué. Pour l'enregistrement activez la fenêtre de vue d'ensemble du bloc de données d'où vous souhaitez reprendre les paramètres. Appuyez ensuite sur le bouton «Apply» (qui se trouve dans le profil de paramètres réglé en usine dans la barre d'outils [toolbar]).



Si vous ne trouvez pas le bouton «Apply» dans une des fenêtres indiquées, vous pouvez enregistrer la touche dans n'importe quelle fenêtre avec Tools / Customize. Sélectionnez dans la fenêtre de dialogue affichée le dossier «Commands», Catégorie : File. Cliquez avec la touche gauche de la souris sur la touche «Apply», maintenez la pression sur la touche gauche de la souris et glissez-la dans la fenêtre de votre choix. Relâchez la touche gauche de la souris dès que la touche se trouve dans la position actuelle.

13.2.3. Enregistrement d'images

Les images individuelles et les expériences peuvent être enregistrées dans les formats qui sont déjà décrits dans le paragraphe «Formats lisibles de fichier».

Vous pouvez enregistrer vos images et expériences à l'aide de File →Save. Lors du premier enregistrement d'une expérience, la fonction «Save as» est automatiquement utilisée, afin que vous puissiez lui donner un nom de fichier. Outre la définition du nom adapté, vous pouvez également sélectionner le format de données. Les expériences sont enregistrées uniquement en format spécifique à Leica *.lei. Lors de l'enregistrement d'expériences, vous pouvez également enregistrer des images individuelles existantes en format *.tif ou *.raw.



Si vous aviez déjà enregistré une fois l'expérience ou l'image, les anciennes données sont écrasées à chaque nouvel enregistrement. Si vous ne le souhaitez pas, et que vous souhaitez enregistrer les nouvelles données sous un autre nom, sélectionnez File →Save as.

13.2.4. Organisation de données en groupant les expériences

Le concept du Leica Confocal Software permet de regrouper des images individuelles, des séries d'images ainsi que des résultats de séquences de travail en un groupe – une expérience. Vous obtenez une vue d'ensemble des expériences enregistrées dans la fenêtre d'aperçu des expériences (Experiment Overview). Si la fenêtre de vue d'ensemble est fermée, vous pouvez l'ouvrir à l'aide de View / Experiment Overview. Une nouvelle expérience est constituée à l'aide de File / New et File / New (Template). Les fichiers déjà enregistrés que vous ouvrez sont aussi gérés comme des expériences séparées.

13.2.5. Regroupement d'expériences

Une fois que vous avez défini une nouvelle expérience à l'aide de File / New ou File / New (Template), vous pouvez la remplir successivement de données.



Les images enregistrées à l'aide de la fonction de balayage infini (Continuous scan) sont automatiquement écrasées lors du prochain démarrage de balayage. Si vous souhaitez conserver une image individuelle de façon permanente en tant que pièce relative à une expérience, vous devez sélectionner la fonction de balayage unique.

Une expérience comprend les données, qui ont été enregistrées à l'aide des fonctions «balayage unique» ou du «balayage en série». Si vous effectuez les fonctions de traitement d'image sur un bloc de données, vous pouvez également enregistrer les résultats sous la forme de pièce constitutive de l'expérience. Sélectionnez par un double clic l'image individuelle ou la série à partir de la fenêtre de vue d'ensemble d'expérience.

Exécutez maintenant les fonctions de traitement d'image (par ex. la projection maximum ou l'image topologique, entre autres). Marquez le domaine au sein de la fenêtre de vue d'ensemble (Viewer), que vous souhaitez conserver en tant que pièce constitutive de l'expérience. A l'aide de la touche droite de la souris (menu contextuel) sélectionnez **Send to / Experiment** .

L'option **Selection (raw)** crée une copie des données brutes de l'objet sélectionné en tant que nouvelle pièce constitutive séparée de l'expérience. L'option **Selection (snapshot)** crée une image RVB (pas de données en 3D, une véritable photo) de l'objet sélectionné en tant que nouvelle pièce constitutive de l'expérience.

13.3.Touches de raccourci

Pour accéder plus rapidement aux fonctions utilisées fréquemment, vous disposez des raccourcis clavier suivants :

Combinaison de touches	**Fonction**
F1	Exécute l'aide en ligne.
ALT + F8	Ouvre la fenêtre de dialogue Macros permettant d'exécuter, d'éditer et d'effacer des macros.
ALT + F9	Ouvre une fenêtre de dialogue contenant les macros existants pouvant être exécutés à partir de cette fenêtre.
ALT + F10	Exécute l'aide en ligne pour le langage macro LCS.
ALT + F11 (optionnel)	Exécute l'environnement de développement VBA (optionnell).
CTRL + I	Cette option permet d'installer ultérieurement des licences.
CTRL + J	Ouvre la fenêtre de dialogue Objective pour la définition et la sélection des objectifs de microscope.
CTRL + L	Ouvre la fenêtre de dialogue Legend Info pour la saisie des indications personnalisées, enregistrées et affichées pour documenter les prises de vue.
CTRL + M	Permet de sélectionner le microscope Leica utilisé.
CTRL + N	Ouvre une nouvelle expérience.
CTRL + O	Ouvre la fenêtre de dialogue Open permettant d'ouvrir un fichier existant.
CTRL + P	Ouvre la fenêtre de dialogue Printer Selection.

CTRL + S	Enregistre l'expérience active.
CTRL + B	Ouvre la fenêtre Beam Path Setting servant à configurer les paramètres nécessaires pour l'acquisition des images.

13.4. Fonctions du menu

13.4.1. Menu File

Les fonctions suivantes sont disponibles via la ligne de menu :

- **New :**

Cette option ouvre une nouvelle expérience dans une nouvelle fenêtre de vue d'ensemble. Le pré-paramétrage actif est utilisé pour représenter la fenêtre de vue d'ensemble (voir pour cela le chapitre «Pré-paramétrages et les modèles»).

- **New (Template) :**

Cette option ouvre une nouvelle expérience dans une nouvelle fenêtre de vue d'ensemble. Le type de représentation de la fenêtre de vue d'ensemble peut être sélectionnée à partir d'un jeu de modèles.

- **Open :**

Cette option ouvre une expérience déjà enregistrée ou un bloc de données individuel (données d'image ou annotation). Le pré-paramétrage actif est utilisé pour représenter la fenêtre de vue d'ensemble (voir pour cela le chapitre «Pré-paramétrages et les modèles»).

- **Open (Template) :**

Cette option ouvre une expérience déjà enregistrée, un bloc de données individuel ou des fichiers de documentation ou de présentation. Le type de représentation de la fenêtre de vue d'ensemble peut être sélectionnée à partir d'un jeu de modèles.

- **Close :**

Cette option ferme l'expérience active en cours. L'expérience n'est pas automatiquement enregistrée avant la fermeture.

Il ne vous sera pas demandé d'enregistrer l'expérience avant de la fermer.

- **Close all :**

Cette option ferme toutes les expériences. L'expérience n'est pas automatiquement enregistrée avant la fermeture.

Il ne vous sera pas demandé d'enregistrer l'expérience avant de la fermer.

- **Save :**

Enregistre l'expérience active.

- **Save as :**

Enregistre l'expérience active sous un nom différent.

- **Save all :**

Enregistre toutes les expériences ainsi que les pages de présentation.

Si une ou plusieurs expériences ou pages de présentation n'ont pas été enregistrées avec la commande «Save», l'expérience doit être enregistrée dans la fenêtre «Save as» sous un nouveau nom et en indiquant le répertoire de destination.

- **Recent files :**

Ouvre un des derniers fichiers ouverts.

- **Print :**

Ouvre un dialogue pour imprimer le contenu de la fenêtre active en cours.

- **Exit :**

Termine le programme.

13.4.2. Menu View

Les fonctions suivantes sont disponibles via la ligne de menu :

- **Menus :**

Cette option permet d'activer ou de désactiver le menu TCS et la barre d'outils (toolbar).

- **Statusbar :**

Cette option active ou désactive la représentation de la barre d'état dans le bord inférieur de la surface utilisateur du logiciel LCS.

- **Experiment Overview :**

Cette option ouvre une fenêtre qui contient l'arborescence des expériences individuelles et leurs pièces constitutives (blocs de données, graphiques, etc.). En double-cliquant sur la pièce constitutive de l'expérience souhaitée au sein de la fenêtre de vue d'ensemble correspondant, la fenêtre de vue d'ensemble correspondante se place au premier plan.

- **Hardware Legend :**

Cette option affiche ou masque la légende des matériels.

13.4.3. Menu Macro

Les fonctions suivantes sont disponibles via la ligne de menu :

- **Macros :**

En fonction du logiciel installé, cette option permet soit d'éditer directement des macros ou seulement de les enregistrer et les démarrer.

Les macros peuvent être également éditées et modifiées lorsque l'environnement de développement VBA intégré complet (IDE) a été installé.

- **Run Macros :**

Ouvre une fenêtre de dialogue contenant les macros existants. Les macros peuvent être exécutées à partir de cette fenêtre.

- **Macro Interface Help :**

Exécute l'aide en ligne pour le langage macro LCS.

- **Record a New Macro :**

Démarre l'enregistreur de macro pour mémoriser automatiquement une macro.

(Vous pourrez trouver de plus amples informations sur l'environnement de développement de macro en option dans la documentation jointe.)

- **Pause Recording :**

Interrompt l'enregistrement automatique d'une macro.

- **Stop Recording :**

Arrête l'enregistrement automatique d'une macro.

- **Visual Basic Editor (en option) :**

Démarre le logiciel pour développer des macros et des programmes à partir de Visual Basic for Applications (VBA). Les macros peuvent ici être éditées, modifiées et des programmes entiers peuvent même être développés.

13.4.4. Menu Tools

Les fonctions suivantes sont disponibles via la ligne de menu :

- **Legend Info :**

Cette option ouvre la fenêtre de dialogue pour saisir les indications spécifiques à l'utilisateur. Ces indications (par ex. nom de l'institut, dénomination de l'échantillon, etc.) sont enregistrées avec chaque bloc de données et peuvent être affichées dans la légende à côté des images enregistrées.

- **Objective :**

Cette option ouvre la fenêtre de dialogue pour définir les objectifs utilisés. Les objectifs que vous utilisez peuvent être copiés à partir de la liste disponible dans la fenêtre de dialogue par «Drag and Drop» afin de les porter à la connaissance du logiciel.

Il est important d'indiquer l'objectif correctement, car certaines dimensions calculées en dépendent (par ex. les dimensions du champ de balayage), adaptation automatique du diaphragme de détection.

- **Microscope :**

Cette option permet de sélectionner le microscope Leica utilisé. Cette sélection influence la nature et le fonctionnement de commande du microscope (par ex. le revolver à objectifs motorisé).

- **Stains :**

Cette option permet d'entrer manuellement les valeurs des courbes de colorants.

- **Settings :**

Cette option permet de sélectionner les paramètres matériels, qui vont être repris lors de l'ouverture d'un bloc de données déjà enregistré.

- **License :**

Cette option permet d'installer ultérieurement des licences. Une licence est en général installée ultérieurement si un progiciel proposé en option est acheté ultérieurement.

13.4.5. Menu Window

Les fonctions suivantes sont disponibles via la ligne de menu :

- **New Window :**

Cette option ouvre une nouvelle fenêtre de vue d'ensemble au sein d'une même expérience. Ainsi, le même bloc de données peut être représenté simultanément de différentes façons (par ex. la représentation Topo + Overlay)

13.4.6. Menu Help

Les fonctions suivantes sont disponibles via la ligne de menu :

- **Contents :**

Ouvre le sommaire de l'aide en ligne.

- **Search :**

Démarre la recherche globale au sein de l'aide en ligne.

- **Index :**

Ouvre le répertoire des mot-clés de l'aide en ligne.

- **Tutorials :**

Ouvre un tutoriel expliquant pas à pas les procédures choisies.

- **Set Language :**

Permet de sélectionner la langue de l'aide en ligne.

13.5. Formats de données du LCS

13.5.1. Formats de données spécifiques à l'utilisateur et dépendant des appareils

Le logiciel LCS dispose des formats de fichier suivants pour les données spécifiques à l'utilisateur :

	Répertoire: Leica	Répertoire: User
Valeurs pour les instruments (Instrument Parameter Settings)	*.IPS	*.IPS
Macros	Company.mac	User.mac
Modèles pour console d'utilisation	*.pbo	*.pbo
Profils utilisateur	CompanyProfile.pro	PersonalProfile.pro LastExitProfile.pro LastRecent.lst
Modèles	*.prt	*.prt
Données d'étalonnage	Machine.lhw	
Tableaux d'affectation des couleurs	*.lut	
Profil spécifique à l'utilisateur comme défini lors de la dernière utilisation		*.lst

Les divers formats de fichiers en détails :

- ***.IPS**

Ce format sert à enregistrer les paramètres d'instrument. Il s'agit de paramètres matériels tels que l'intensité des lignes de laser, le nombre de canaux utilisés simultanément, le type du séparateur de faisceau principal utilisé, la position et la largeur de bande des diaphragmes de spectrophotomètre ainsi que la sensibilité des détecteurs. Il existe aussi bien des enregistrements standard de paramètres d'instrument invariables définis au départ usine et qui permettent une configuration très rapide du matériel, que la possibilité pour l'utilisateur de créer ses propres enregistrements de paramètres d'instrument dans son répertoire d'utilisateur. Vous pouvez avec ce format enregistrer des paramètres d'instruments typiques pour le type d'application et les reproduire pour d'autres expériences.

- ***.mac**

Ce format sert à enregistrer les macros. Les macros comportent le code de programme VBA (Visual Basic for Application). Les objets de programme individuels pour commander le système à foyer commun sont mis en place par Leica dans un modèle d'objet. Vous trouverez de plus amples détails pour créer des macros afin de commander le système à foyer commun au manuel «Le langage macro du LCS».

Des macros pré-définies en usine sont déjà fournies avec le logiciel ; vous pouvez les utiliser sans modification et les modifier aussi vous-même. Les macros que vous avez créées ou modifiées sont enregistrées dans le répertoire propre à chaque utilisateur.

- ***.pbo**

Cet format sert à enregistrer des modèles pour agencer la console d'utilisation. Ces modèles permettent de définir quels paramètres de balayage doivent être commandés avec quels boutons. Il existe ici aussi des pré-réglages en usine, conçus de façon sensée pour la plupart des applications standard. Les modèles définis par l'utilisateur sont enregistrés dans le répertoire propre à chaque utilisateur.

- ***.pro**

Cet format sert à enregistrer les profils spécifiques de la surface utilisateur. Ces profils définissent entre autres la position d'une icône dans une barre d'outils. De plus, l'utilisateur peut définir des nouvelles barres d'outils, et de masquer/afficher les barres d'outils existantes. La position de la barre d'outils (implantée ou mobile) est déterminée dans un profil. Ainsi, chaque utilisateur peut établir sa propre surface utilisateur. Les responsables du système peuvent grâce à cet outil créer par exemple une propre surface utilisateur en fonction de son niveau de connaissance (débutants, avancés, experts).

- ***.lst**

Dans le répertoire utilisateur, à côté des profils spécifiques à chaque utilisateur, le profil de la dernière utilisation ainsi qu'une liste avec les quatre derniers blocs de données utilisés par l'opérateur sont enregistrés.

- ***.prt**

Ce format sert à enregistrer des modèles pour la fenêtre de vue d'ensemble «Viewer». Ainsi, la structure et la nature des informations représentées sont mémorisées de manière spécifique. Vous trouverez une explication des possibilités de configuration au chapitre «Fenêtre de vue d'ensemble Viewer».

- ***.lhw**

Ce format sert à mémoriser les données d'étalonnage et les paramètres du matériel du système à foyer commun. Ce fichier ne peut être modifié que par le personnel de maintenance agréé par Leica Microsystems Heidelberg.



Des modifications apportées à ce fichier peuvent entraîner de graves dommages, éventuellement irréparables au système à foyer commun. Les dommages qui après vérification sont dus à la modification de ce fichier par l'utilisateur entraînent une perte de la garantie pour l'intégralité du système.

- ***.lut**

Ce format sert à enregistrer des tableaux d'affectation de couleurs. Grâce à lui, les valeurs d'intensité mesurées par le détecteur sont agencées en couleurs individuelles. Ainsi, outre la représentation pure de couleurs, des domaines d'intensité définis sont mis en relief. Vous trouverez d'autres détails au chapitre «Sélection des tableaux d'affectation de couleurs».

13.5.2. Formats de données spécifiques à Leica

Les formats de fichier suivants peuvent être ouverts et lus par le Leica Confocal Software.

- **Données brutes (*.raw)**

Le format RAW enregistre des données comme une matrice linéaire bidimensionnelle en format INTEL. L'indice de colonne correspond à la dimension de lecture par balayage la plus rapide (l'axe X le plus souvent), l'indice de ligne correspond à la dimension de lecture par balayage la plus lente (l'axe Y le plus souvent). Dans un enregistrement sur 8 bits, chaque grandeur de mesure est enregistrée comme un octet individuel. Dans un enregistrement sur 12 bits, 2 octets sont utilisés, le premier octet contenant les bits de plus fort poids conformément au format INTEL (little endian). Chaque intersection optique est enregistrée pour chaque canal dans un fichier séparé avec l'extension de fichier .raw. a convention des noms est : Nom de l'expérience_Nom du bloc de données_Numéro de canal_Dimension z_Numéro de l'intersection optique.raw

- **Expériences (*.lei)**

Il s'agit ici d'un format binaire de données spécifique à Leica. Ce format est prévu pour des données d'expériences complètes.

Ce format de données sert à enregistrer des descriptions de données, qui présentent une série de fichiers d'image en format TIFF ou format RAW.

- **Fichiers TIFF (*.tif)**

Il s'agit ici de fichiers d'image Leica en format TIFF Single et Multi. Il peut également lire des fichiers d'image utilisés par les formats TCS précédemment utilisés ainsi que des données externes en format RGB-TIFF.

- **Annotation (*.ano)**

Il s'agit aussi ici d'un format binaire de données spécifique à Leica. Il sert à enregistrer des pages de présentation (annotations). Les éléments présents dans les pages de présentation comme les images, les textes et les graphiques se présentent à chaque fois comme des objets individuels.



Qu'il s'agisse dans la grandeur de mesure enregistrée d'une valeur d'intensité ou d'une valeur de hauteur, elle est enregistrée dans le fichier LEI associé.

Représentation d'un nombre de 12 bits en format INTEL

L'octet de moindre valeur selon le format INTEL							
2^7	2^6	2^5	2^4	2^3	2^2	2^1	2^0

L'octet de valeur plus élevée selon le format INTEL							
2^{15}	2^{14}	2^{13}	2^{12}	2^{11}	2^{10}	2^9	2^8

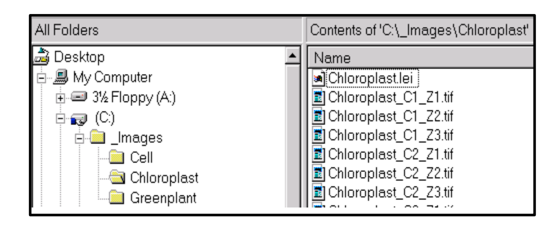
14. Spécification du format de fichier «Lei» (Version beta 2.000)

Dès que le logiciel LCS a enregistré un fichier, un sous-répertoire est d’abord placé dans le répertoire courant.

Ce sous-répertoire contient :

1. Un fichier de description; sa structure est décrite ci-après. Il sert à interpréter les données d’une expérience par le logiciel LCS

2. Les fichiers d’image individuels; l’attribution du nom des fichiers d’image suit la logique suivante :



NOM_numéro de canal_indice de dimension.

Ainsi, par ex. Chloroplast_C1_Z1 signifie que le nom du bloc de données donné par l’utilisateur est «Chloroplast», que l’image correspond à la première intersection optique d’une pile de données tridimensionnelle (Z1) et que les données ont été enregistrées dans le premier canal de détection (C1).

Figure 32: Exemple d’enregistrement d’une expérience dans le format «Lei»

14.1. Structure du fichier de description

Le fichier de description ne peut être lu que par le logiciel LCS.

Il se compose d’un regroupement de divers tableaux et possède la structure suivante

Tableau d’en–tête

Octet	Signification	Valeurs possibles
0 ... 3	Agencement des octets	0x49494949 Intel LSB 0x4D4D4D4D Motorola MSB
4 ... 7	Identification pour le format «Lei» de Leica	0x016033F0
8 ... 11	Numéro de version	courant : =x20000000
12 ... 15	Adresse du tableau de répertoire **A**	toute adresse possible dans le domaine de la longueur générale du fichier

Tableau de répertoire A

Adresse	Signification	Type de données de l’entrée
Adresse de **A** = A	Nombre d’entrées dans ce tableau	DWORD
A+4	Index de la première entrée (cite un bloc de mémoire logique, par ex. les paramètres d’enregistrement («Hardwaresettings») ou des paramètres d’image («Dimensions»)	DWORD
A+8	Adresse **A1** de la première entrée	DWORD
A+12	Index de la première entrée (cite un bloc de mémoire logique, par ex. les paramètres d’enregistrement («Hardwaresettings») ou des paramètres d’image («Dimensions»)	DWORD
A+14	Adresse **A2** de la deuxième entrée	DWORD
…	...	...

La longueur des tableaux de répertoire dépend du nombre d’images et de données d’image devant être enregistrés dans une expérience (paramètre d’enregistrement, nombre de canaux, nombre d’intersections optiques, etc.).

Chaque entrée du tableau de répertoire correspond à un bloc de mémoire logique.

Tableau du bloc Xn

Adresse	Signification	Type de données
A1 ou A2 ou A3.....A_i	Chiffre de contrôle	DWORD
A_i+ 4 octets	Description du contenu du tableau de bloc (n’est pas utilisé actuellement)	DWORD
A_i+ 8 octets	Version de l’entrée	DWORD
A_i+ 12 octets	Taille de l’entrée	DWORD
A_i+ 16 octets	Début de l’entrée	Le type de données dépend du type d’entrée

Les blocs de mémoire logiques suivants sont disponibles :

```
const DWORD    ID_SERIES       =   10;
const DWORD    ID_IMAGES       =   15;
const DWORD    ID_DIMDESCR     =   20;
const DWORD    ID_FILTERSET    =   30;
const DWORD    ID_TIMEINFO     =   40;
const DWORD    ID_SCANNERSET   =   50;
```

```
const DWORD        ID_EXPERIMENT     =    60;
const DWORD        ID_LUTDESC        =    70;
```

Une place de mémoire de 32 octets est définie pour le type de données DWORD.

- **Bloc de mémoire ID_SERIES**

Ce bloc de données comprend des informations sur la taille de la série complète de données rassemblées dans une expérience. Ce bloc de données est toujours présent une seule fois par expérience. Le bloc de données est construit comme suit :

Taille [octet]	Type de données	Symbole	Description
4	int		Numéro de version interne
4	int	nSE	Nombre de séries d'images
4	int	nIm	Longueur d'un nom de fichier en wchar
4	int	nExt	Longueur d'une extension de fichier d'image en octets
nExt	wchar		Extension de fichier du fichier d'image

- **Bloc de mémoire ID_IMAGES**

Ce bloc contient tous les noms de fichiers de tous les fichiers d'image appartenant à une série. Le bloc de données est construit comme suit :

	4	int	nFiles	Nombre d'images individuelles de la série
	4	int		Largeur d'une image individuelle
	4	int		Longueur d'une image individuelle
	4	int		Bits / point de données (résolution de l'enregistrement)
	4	int		Points de données / Pixel (résolution de la représentation)
Pour les prochains fichiers d'image *n*				
	nIm * 2	wchar		Nom de la prochaine image

- **Bloc de mémoire ID_DIMDESCR**

Ce bloc décrit la façon dont est décrit l'image dans un espace à n-dimensions.

	Taille [octet]	Type de données	Symbole	Description
	4	int		Numéro de version interne de la description VOXEL

	4	int		Type Voxel, par ex. RVB ou GRIS (voir tableau suivant TYPES DE VOXEL)
	4	DWORD		Taille d'octet d'un pixel En général : (1 ou 2) ou (3 ou 6 pour RVB)
	4	DWORD		Résolution des données de balayage (8, 12 ou 16 bits)
	4	int	nTC	Longueur de la chaîne de caractères suivante length in wchar (wchar = **w**ide **char**acter; format de caractères de texte, qui utilise contrairement au code ASCII (1 octet) un codage à 2 octets pour les caractères de texte.
	nTC * 2	wchar		Valeur maximale de la grandeur de mesure (valeur d'intensité ou valeur de longueur d'une distance) pour un voxel.
	4	int	nTC	Longueur de la chaîne de caractères suivante en wchar
	nTC * 2	wchar		Valeur minimale de la grandeur de mesure (valeur d'intensité ou valeur de longueur pour une distance) pour un voxel.
	4	int	nTC	Longueur de la chaîne de caractères suivante en wchar
	nTC * 2	wchar		Caractéristique de la grandeur de mesure («I» pour l'intensité, «z» pour la valeur de longueur)
	4	int		Numéro de version interne
	4	int	nDims	Dimension de l'image par ex. x_y_ch_z = 4
Pour les prochaines dimensions *n*				
	4	DWORD		Numéro d'identification (ID) de la dimension (voir la liste suivante «numéro d'identification (ID) pour les dimensions d'image»)
	4	DWORD		Taille de la dimension (par ex. 512 pixels)
	4	DWORD		Distance entre les sous–dimensions (par ex. distance d'octet entre les séries d'images de deux numéros de canal consécutifs)
	4	int	nTC	Longueur de la chaîne de caractères suivante en wchar
	nTC * 2	wchar		Longueur physique avec une unité de longueur par ex. de 10 µm
	4	int	nTC	Longueur de la chaîne de caractères suivante en wchar
	nTC * 2	wchar		Position de démarrage physique avec une unité de longueur par ex. de 10 µm

	4	int	nTC	Longueur de la chaîne de caractères suivante en octets
	nTC	wchar		Nom de la série d’images
	4	int	nTC	Longueur de la chaîne de caractères suivante en octets
	nTC	wchar		Description de la série d’images

- **Numéros d’identification (ID) pour les dimensions d’image**

Les numéros d’identification suivants sont possibles :

ID (déci-mal)	Signification
0	non défini
120	x
121	y
122	z
116	t pour la dimension temporelle
6815843	Numéro de canal
6357100	Longueur d’onde
7602290	Rotation
7798904	largeur x pour la platine xy motorisée
7798905	largeur y pour la platine xy motorisée
7798906	largeur z pour la platine z
4259957	user1 (non spécifié)
4325493	user2 (non spécifié)
4391029	user3 (non spécifié)
6357095	Valeur de gris par ex. de l’histogramme
6422631	Valeur 1 de gris par ex. de l’histogramme
6488167	Valeur 2 de gris par ex. de l’histogramme
6553703	Valeur 3 de gris par ex. de l’histogramme
7864398	x logique (valeur de position non pas physique mais logique)
7929934	y logique (valeur de position non pas physique mais logique)
7995470	z logique (valeur de position non pas physique mais logique)
7602254	t logique (valeur de position non pas physique mais logique)
7077966	valeur de longueur d’onde logique (valeur non pas physique mais logique)
7471182	valeur de rotation logique (valeur non pas physique mais logique)
5767246	valeur de largeur x logique (valeur non pas physique mais logique)
5832782	valeur de largeur y logique (valeur non pas physique mais logique)
5898318	valeur de largeur z logique (valeur non pas physique mais logique)

- **Bloc de mémoire ID_FILTERSET**

Le bloc de mémoire décrit les paramètres du matériel comme par exemple le diamètre de la tête d’épingle ou les filtres sélectionnés. Le bloc de mémoire commence par un

en-tête SAFEARRAY, qui indique la quantité et la taille des entrées. Pour une description complète de la structure SAFEARRAY, voir annexe 1.

3 entrées uniquement sont utilisées par la structure SAFEARRAY :

1. **sa.cDims:** devrait être = 1. Des matrices (Arrays) à une dimension seulement sont utilisées actuellement.
2. **sa.cbElements:** Taille des éléments en octets
3. **sa. rgsabound[0].cElements:** indique combien d'éléments sont compris dans la structure

	Taille [octet]	Type de données	Sym- bole	Description
	24	SAFEARRAY	sa	type Microsoft, voir annexe 1
pour tous les éléments qui contiennent la structure = sa.`rgsabound[0].cElements`				
	128	wchar		Indicateur pour le contenu de l'entrée
	64	wchar		Nom d'une description courte, par ex. une marque de description tiff (tiff–tag)
	64	wchar		Chaîne de caractères (ici se trouve le contenu de la chaîne de caractères)
	16	VARIANT		Contient le type de données et la valeur des données (à l'exception du type de données «string» (chaîne de caractères) ; celui–ci est décrit dans le champ ci–dessus)
	4	DWORD		Place de mémoire séparée pour les valeurs de données
	4	DWORD		Inutilisé
	4	DWORD		Indicateur (ID) du bloc de mémoire (pour une utilisation interne uniquement)
	4	DWORD		Valeur test

- **Bloc de mémoire ID_TIMEINFO**

Ce bloc de mémoire comprend le marqueur temporel pour les séries d'images, qui ont été enregistrées avec le mode de balayage dépendant du temps.

	Taille [octet]	Type de données	Symbole	Description
	4	int	nDims	indique combien de dimensions la description du marqueur temporel comprend
	4	int		indique quelle dimension a été munie d'un marqueur temporel
Pour les prochaines dimensions *n*				
	4	DWORD		Indicateur (ID) de la dimension (voir description du bloc de mémoire D_DIMDESCR)
	4	DWORD		Taille de la dimension (nombre d'éléments par ex. 512 pixels)
	4	DWORD		Distance entre les entrées de dimensions individuelles
	4	int	nTS	Nombre de marqueurs temporels
Pour les prochains marqueurs temporels *n* = nTS				
	64	wchar		Le marqueur temporel sous forme de chaîne de caractères (type de données «string»)
	4	int	nTM	Nombre de marqueurs temporels par marqueur temporel
Pour les prochains marqueurs temporels *m* = nTM				
	4	int	nC	Nombre de dimensions de la description du marqueur temporel
	loop nC			
	4	int		Coordonnées dans cette dimension
	64	wchar		Le marqueur temporel sous forme de chaîne de caractères (type de données wchar)

Exemple :

Image avec les dimensions et les tailles de dimension suivantes :

x	y	ch	z
512	512	3	10

La description d'un marqueur temporel est par ex. 512_512_3_10. Cette description s'adapte complètement à la description de l'image.Une description de marqueur temporel 1024_1024_3_10 pour l'image d'exemple ci-dessus signifie, que l'image originale avait une dimension xy de 1024*1024 qui a été réduite par le logiciel (downsampling). Dans de tels cas, le marqueur temporel doit être à nouveau calculé.

Un marqueur temporel peut être défini à chaque instant lors d'un processus d'enregistrement de données à dimension n (Scan). Une coordonnée d'un marqueur temporel de 0_0_2_7 signifie que le marqueur temporel a été placé pour commencer un bloc de données (0_0_c_#) dans le deuxième canal (0_0_2_#) pour l'intersection optique 7 (0_0_2_7).

- **Bloc de mémoire ID_SCANNERSET**

Ce bloc de mémoire comprend les paramètres d'appareil, qui sont réglés au moment de l'enregistrement de l'image.

D'autres détails sur la structure SAFEARRAY sont disponibles dans la description du bloc de mémoire ID_FILTERSET.

	Taille [octet]	Type de données	Sym-bole	Description
	24	SAFEAR-RAY	sa	type Microsoft, voir annexe
pour tous les éléments qui contiennent la structure = sa.`rgsabound[0].cElements`				
	128	wchar		Indicateur pour le contenu de cette entrée
	64	wchar		Nom pour une courte description par ex. dans le marqueur de description tiff (tiff–description–tag)
	64	wchar		Chaîne de caractères (ici se trouve le contenu de la chaîne de caractères)
	20	VARIANT		Contient le type de données et la valeur des données (à l'exception du type de données «string» (chaîne de caractères) ; celui–ci est décrit dans le champ ci–dessus)
	4	DWORD		Place de mémoire séparée pour les valeurs de données
	4	DWORD		Inutilisé
	4	DWORD		Indicateur (ID) du bloc de mémoire (pour une utilisation interne uniquement)
	4	DWORD		Valeur test

- **Bloc de mémoire ID_EXPERIMENT**

Description du format mémoire utilisé (par ex. fichier “*.lei avec images PC-tiff”)

	Taille [oc-tet]	Type de donnée s	Sym-bole	Description
	4	int		Numéro de version interne
	4	int		Nombre d’images dans l’ensemble des données de l’expérience
	4	int	nTC	Longueur de la chaîne de caractères sui-vante en wchar
	nTC * 2	wchar		Courte description du format
	4	int	nTC	Longueur de la chaîne de caractères sui-vante en wchar
	nTC * 2	wchar		Extension de fichier du fichier principal
	4	int	nTC	Longueur de la chaîne de caractères sui-vante en wchar
	nTC * 2	wchar		Indicateur du format d’image individuelle (par ex. PC−TIFF)
	4	int	nTC	Longueur de la chaîne de caractères sui-vante en wchar
	nTC * 2	wchar		Extension de fichier pour le format d’image individuelle (par ex. tif / raw)

- **Bloc de mémoire ID_LUTDESC**

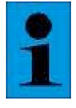
Description des tableaux d’affectation des couleurs (LUT’s)

	Taille [oc-tet]	Type de donnée s	Sym-bole	Description
	4	int	nLU	Nombre de canaux
	4	DWOR D		Indicateur (ID) de la dimension, dont la représentation est colorée
Pour les prochains canaux jusqu’à = nLU				
	4	int		Numéro de version interne
	1	bool		bool IsInverted
	4	int	nTC	Longueur de la chaîne de caractères sui-vante en octets
	nTC	wchar		Description du tableau d’affectation des cou-leurs (LUT)
	4	int	nTC	Longueur de la chaîne de caractères sui-vante en octets

	nTC	wchar		Nom de fichier du tableau d’affectation des couleurs (s’il existe)
	4	int	nTC	Longueur de la chaîne de caractères sui-vante en octets
	nTC	wchar		Nom du tableau d’affectation des couleurs
	4	int		Champ pour l’utilisation interne
	4	int		Dimension pour le tableau d’affectation des couleurs

- **SAFEARRAY Data Type**

```
typedef struct FARSTRUCT tagSAFEARRAY {
   unsigned short cDims;       // Count of dimensions in this array
   unsigned short fFeatures;    // DON'T CARE
   unsigned long cbElements;    // Size of an element of the array.
// Does not include size of
// pointed–to data.
   unsigned long cLocks;        // DON'T CARE
   void HUGEP* pvData;          // Pointer to the data.
   SAFEARRAYBOUND rgsabound[1]; // One bound for each dimension.
} SAFEARRAY;
```



Le format de fichier spécifique à Leica «LEI» utilise uniquement des matrices à une dimension (Arrays)

- **SAFEARRAYBOUND Structure**

Represents the bounds of one dimension of the array. The lower bound of the dimension is represented by *lLbound*, and `cElements` represents the number of elements in the dimension. The structure is defined as follows:

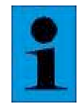
```
typedef struct tagSAFEARRAYBOUND {
   unsigned long cElements;          // num of elements
   long lLbound;                     // DON'T CARE
} SAFEARRAYBOUND;
```

- **VARIANT and VARIANTARG**

```
typedef struct FARSTRUCT tagVARIANT VARIANT;

typedef struct tagVARIANT  {
VARTYPE vt;
unsigned short wReserved1;
unsigned short wReserved2;
unsigned short wReserved3;
union {
unsigned char        bVal;            // VT_UI1.
short                iVal;            // VT_I2    .
long                 lVal;            // VT_I4    .
float                fltVal;          // VT_R4    .
double               dblVal;          // VT_R8    .
VARIANT_BOOL         boolVal;         // VT_BOOL.
SCODE                scode            // VT_ERROR .
CY                   cyVal;           // VT_CY               .
DATE                 date;            // VT_DATE.
BSTR                 bstrVal;         // VT_BSTR.
IUnknown             FAR* punkVal;    // VT_UNKNOWN.
```

```
IDispatch          FAR* pdispVal;     // VT_DISPATCH.
SAFEARRAY          FAR* parray;       // VT_ARRAYI*.
unsigned char      FAR* pbVal;        // VT_BYREFIVT_UI1.
short              FAR* piVal;        // VT_BYREFIVT_I2.
long               FAR* plVal;        // VT_BYREFIVT_I4.
float              FAR* pfltVal;      // VT_BYREFIVT_R4.
double             FAR* pdblVal;      // VT_BYREFIVT_R8.
VARIANT_BOOL       FAR* pboolVal;     // VT_BYREFIVT_BOOL.
SCODE              FAR* pscode;       // VT_BYREFIVT_ERROR.
CY                 FAR* pcyVal;       // VT_BYREFIVT_CY.
DATE               FAR* pdate;        // VT_BYREFIVT_DATE.
BSTR               FAR* pbstrVal;     // VT_BYREFIVT_BSTR.
IUnknown FAR*      FAR* ppunkVal;     // VT_BYREFIVT_UNKNOWN.
IDispatch FAR*     FAR* ppdispVal;    // VT_BYREFIVT_DISPATCH.
SAFEARRAY FAR*     FAR* pparray;      // VT_ARRAYI*.
VARIANT            FAR* pvarVal;      // VT_BYREFIVT_VARIANT.
void               FAR* byref;        // Generic ByRef.
};
};
```



Dans les fichiers de format «LEI», les pointeurs ne sont jamais utilisés comme paramètre.

- **VARTYPE**

```
typedef unsigned short VARTYPE;
enum VARENUM{
VT_EMPTY          = 0,     // Not specified.
VT_NULL           = 1,     // Null.
VT_I2             = 2,     // 2–byte signed int.
VT_I4             = 3,     // 4–byte signed int.
VT_R4             =4,      // 4–byte real   .
VT_R8             = 5,     //8–byte real.
VT_CY             = 6,     // Currency     .
VT_DATE           = 7,     // Date.
VT_BSTR           = 8,     // Binary string.
VT_DISPATCH       = 9,     // IDispatch
VT_ERROR          = 10,    // Scodes.
VT_BOOL           = 11,    // Boolean; True=–1, False=0.
VT_VARIANT        = 12,    // VARIANT FAR*.
VT_UNKNOWN        = 13,    // IUnknown FAR*.
VT_UI1            = 17,    // Unsigned char.

// Other constants that are not valid in VARIANTs omitted here.

};
VT_RESERVED   = (int) 0x8000
// By reference, a pointer to the data is passed.
```

VT_BYREF = (int) 0x4000
VT_ARRAY = (int) 0x2000 // A safe array of the data is passed.

La valeur vt détermine l’interprétation des données de l’expérience comme suit :

Valeur	Description
VT_EMPTY	Aucune valeur n’a été signalée.
VT_UI1	Un caractère à 1 octet sans nom a été enregistré dans *bVal*.
VT_I2	Une valeur de nombre entier à 2 octets (integer) a été enregistrée dans *iVal*.
VT_I4	Une valeur de nombre entier à 4 octets (integer) a été enregistrée dans *lVal*.
VT_R4	Une valeur réelle de 4 octets IEEE (real value) a été enregistrée dans *fltVal* .
VT_R8	Une valeur réelle de 8 octets IEEE (real value) a été enregistrée dans *dblVal*.
VT_CY	Une valeur décimale fixe a été signalée. La valeur décimale fixe se compose de 15 chiffres avant la virgule et de 4 chiffres après la virgule. La valeur a été enregistrée dans *cyVal*.
VT_BSTR	Exception pour les fichiers en format Lei : Une chaîne de caractères a été enregistrée dans les variables TCHAR.
VT_NULL	Une valeur nulle flottante a été signalée. Le zéro flottant n’est cependant pas un afficheur ZERO. Cette valeur est nécessaire pour la logique à 3 états comme par ex. dans la langue des requêtes de la banque de données SQL.
VT_ERROR	Une erreur SCODE a été signalée. Le type d’erreur est spécifié en *scodee*.
VT_BOOL	Une dimension booléenne (vrai/faux) a été signalée. La valeur 0xFFFF (tous les bits =1) signifie «vrai», la valeur 0 (tous les bits =0) signifie «faux».
VT_DATE	Une valeur, qui correspond à une date, a été signalée. Une date a été enregistrée comme un chiffre en format de double–précision. Toutes les données ont été enregistrées comme des jours de différence au premier janvier 1900. L’entrée «25» correspond par exemple au 25–01–1900.

15. Introduction à l’aide du logiciel Leica Confocal

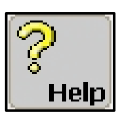
Le Leica TCS SP2 est équipé d’un système d’aide contextuel, qui vous explique les diverses fonctions du système.

Les instances d’aide disponibles sont les suivantes :

15.1. Aide rapide

Quand vous laissez le pointeur de la souris pendant un certain temps au-dessus d’un bouton du logiciel Leica Confocal, une description brève de la fonction du bouton est affichée. Cette description brève (infobulle) disparaît de nouveau quand vous déplacez la souris.

15.2. Aide contextuelle



A l’aide de la touche Help activez la fonction d’aide contextuelle de l’aide en ligne, où vous pouvez demander de brèves explications sur diverses touches et fonctions du logiciel Leica Confocal Software.

1. Cliquez sur la touche Help.
2. Un point d’interrogation s’affiche à l’écran à côté du pointeur de la souris. Toutes les touches sont maintenant provisoirement sans fonction.
3. Cliquez avec le pointeur sur la touche sur laquelle vous souhaitez plus d’informations.
4. L’aide en ligne s’ouvre avec la description de la touche correspondante.

   Dans l’aide en ligne, vous pouvez chercher des infos sur un certain sujet ou sur une touche grâce à un index de mots clé et à une fonction de recherche. Les descriptions individuelles peuvent être imprimées.

   Vous pouvez aussi ouvrir l’aide en ligne en cliquant dans le menu Helpsur l’une des options Contents, Searchou Index.

Si le bouton Helpne se trouve pas sur l’interface utilisateur :

1. Dans le menu Tools, sélectionnez l’option Customize. Vous trouvez ici toutes les fonctions classées par catégories.
2. Dans la catégorie File, vous trouvez le bouton Help.
3. Cliquez sur la touche avec le bouton gauche de la souris et, sans lâcher le bouton de la souris, faites glisser la touche dans la fenêtre souhaitée.

15.3.Sommaire de l'aide en ligne (Contents)

Cliquez sur Help / Contents. L'aide en ligne est appelée et indique le champ de dialogue CONTENTS (contenus).

Ce champ de dialogue comprend un sommaire arborescent, qui peut être agrandi ou réduit.

Double-cliquez sur une entrée du sommaire, afin d'afficher les informations correspondantes.

15.4.Recherche avec des mots-clés (Index)

Cliquez sur Help (aide)/ Index. L'aide en ligne est appelée et affiche le champ de dialogue INDEX (index).

Entrez le terme que vous voulez chercher. L'aide en ligne vous affiche le mot-clé se rapprochant le plus du terme indiqué.

Sélectionnez un mot-clé. Pour afficher la page d'aide correspondant au mot-clé recherché, double-cliquez sur le mot-clé ou cliquez sur le bouton Display.

15.5.Recherche en fonction d'un texte

Cliquez sur Help (aide)/ Search (chercher l'aide). L'aide en ligne est appelée et le champ de dialogue affiche SEARCH (chercher).

Entrez le terme ou l'expression à rechercher et cliquez sur le bouton LIST TOPICS (afficher les sujets).

Une liste de sujets à division hiérarchique s'affiche alors.

Cliquez sur le triangle à droite de la boîte de saisie pour afficher les opérateurs logiques. Sélectionnez l'opérateur souhaité. A la suite de l'opérateur, entrez le deuxième critère de recherche lié au premier par l'opérateur :

Exemples	Résultat
Ouverture AND Coupe	Cette expression recherche les textes d'aide contenant aussi bien le mot ”ouverture” que le mot ”coupe”.
Ouverture OR Coupe	Cette expression recherche les textes d'aide contenant soit le mot ”ouverture”, soit le mot ”coupe”, ou les deux.

Ouverture NEAR Coupe	Cette expression recherche les textes d'aide dans lesquels le mot "ouverture" et le mot "coupe" sont à une certaine distance l'un de l'autre. En outre, la fonction recherche aussi les mots ayant une orthographe similaire.
Ouverture NOT Coupe	Cette expression recherche les textes d'aide contenant le mot "ouverture" mais pas le mot "coupe".

15.6. Favoris (Favorites)

Quand vous sélectionnez l'onglet Favoritesdans la fenêtre de l'aide, vous pouvez ajouter le thème actuel de l'aide dans une liste. Cette liste permet d'accéder rapidement aux thèmes souhaités.

15.7. Notions et notation

- **Bouton**

Les boutons représentent les commandes disponibles dans le logiciel Leica Confocal Software. A chaque bouton correspond un pictogramme et/ou un texte anglais (souvent abrégé). Les boutons déclenchent une action directement ou ouvrent une fenêtre de dialogue.

- **Menu**

Les menus sont les groupes de commandes classées par catégories : File, View, Macro, Tools, Window et Help. Ils figurent dans la barre de menus au bord supérieur de l'interface utilisateur.

- **Option**

Les options sont les possibilités de sélection figurant par ordre hiérarchique sous les menus. Les options déclenchent une action directement ou ouvrent une boîte de dialogue.

- **Fenêtre de dialogue**

Aussi bien les boutons que les options ouvrent des boîtes de dialogue. Les boîtes de dialogue permettent de sélectionner des fonctions ou de configurer des paramètres.

- **Onglet**

Les onglets se trouvent dans les fenêtres de dialogue. Les onglets servent à organiser les paramètres et les fonctions proposés dans une fenêtre de dialogue par thèmes. Certains onglets sont subdivisés en champs.

- **Fenêtre de vue d'ensemble**

Il existe deux types de fenêtre de vue d'ensemble dans le logiciel Leica Confocal Software : : la fenêtre Viewer est ouverte à l'aide de la touche New et contient les images enregistrées. La fenêtre Experiment Overview contient l'arborescence des images enregistrées. Cette fenêtre de vue d'ensemble est sélectionnée dans le menu View et affichée sur le bord gauche de l'interface utilisateur.

- **Légende**

Le logiciel Leica Confocal Software contient deux légendes qui affichent les paramètres et la configuration d'une prise de vue. La légende Experiment peut être affichée sur le bord droit de la fenêtre Viewer. La légende Hardware est sélectionnée dans le menu View et affichée sur le bord droit de l'interface utilisateur.

- **Menu contextuel**

Les menus contextuels sont affichés quand vous appuyez sur la touche droite de la souris. Ces menus contextuels contiennent les commandes utilisables dans un certain contexte.

15.8. Exécution des tâches

Selon le titre préliminaire, vous pouvez choisir entre la procédure pour exécuter la tâche souhaitée (c.-à-d. par des directives progressives), ou diverses options, parmi lesquelles vous pouvez sélectionner.

En général, une succession d'étapes est indiquée. Suivez l'(es) étape(s) afin de déclencher l'(es) action(s) souhaitée(s).

16. Aide par Internet

En cas de problème, veuillez vous adresser d'abord à votre représentant Leica ou votre revendeur Leica local.

Si vous souhaitez obtenir des informations sur Leica Microsystems Heidelberg GmbH et sur la microscopie à foyer commun, vous les trouverez sur notre site web à l'adresse suivante

http://www.confocal-microscopy.com

Ou envoyez un courrier électronique à CLSM.Support@leica-microsystems.com.

17.Entretien et nettoyage

Vous trouverez dans les manuels correspondants des informations sur la maintenance et l'entretien du microscope classique de recherche LEICA.

Les instructions et les informations supplémentaires concernant les composants du système à foyer commun, sont résumées ci-dessus.

17.1. Sélection du lieu d'utilisation

- **Ne placez jamais le système dans un endroit à courant d'air.**

Il faut veiller à ce que le system ne soit jamais placé à proximité d'ascenseurs, climatiseurs et systèmes d'aération. Réfléchissez bien à l'avance à son placement.

- **Protégez le microscope de la poussière et de la graisse.**

Lorsque vous n'utilisez pas le système, recouvrez-le toujours d'une housse (comprise dans la livraison) ou d'un tissu en coton propre. Le système doit être activé dans un environnement aussi exempt de poussière et de graisse que possible.

Si aucun objectif ne se trouve dans le revolver à objectifs, les emplacements des objectifs doivent être pourvus de leur cache anti-poussière.

- **Utilisez très prudemment les produits chimiques agressifs.**

Soyez extrêmement prudent lorsque vous utilisez en cours de travail des acides, des solutions alcalines ou d'autres produits chimiques agressifs. Prenez garde à ce que ces substances n'atteignent pas les composants optiques et mécaniques du système.

17.2.Nettoyage du système optique

Le système optique du microscope doit toujours être nettoyé. Il ne faut en aucun cas toucher les composants optiques avec les doigts ou quelque chose de sale ou de gras.

Eliminez la poussière à l'aide d'un pinceau fin et sec. Si cela ne suffit pas, vous pouvez utiliser un tissu propre humecté avec de l'eau distillée.

Les saletés durcies déposées sur la surface du verre s'enlèvent avec de l'alcool pur, du chloroforme ou du naphte.

Si une lentille d'objectif a été contaminée accidentellement par de l'huile d'immersion non adaptée ou par l'échantillon, veuillez vous adresser à votre représentation Leica la plus proche. On vous y donnera des conseils sur certains solvants à utiliser pour le nettoyage.

Laissez-vous conseiller dans le choix du solvant adapté, car certains solvants peuvent dissoudre la colle utilisée pour fixer la lentille.



N’ouvrez jamais les objectifs pour les nettoyer !

Les lentilles d’immersion doivent être jetées directement après leur utilisation dans l’huile d’immersion.

Enlevez l’huile d’immersion ensuite avec un chiffon propre. Une fois que vous avez enlevé une grande partie de l’huile d’immersion, placez un tissu fin adapté aux lentilles sur la face d’immersion de la lentille. Faites tomber une goutte du solvant que l’on vous a conseillé et frottez doucement avec le tissu sur la surface de la lentille. Répétez ce processus jusqu’à ce que la lentille soit complètement nettoyée. Utilisez à chaque fois un nouveau morceau de tissu propre.

17.3.Nettoyage de la surface du microscope

Utilisez un morceau de tissu en coton ou une peau de chamois (humecté de naphte ou d’alcool), pour nettoyer la surface du boîtier de microscope ou du scanner (pièces peintes).



Ne jamais utiliser d’acétone, de xylol ou de diluant nitré car ces produits attaquent la peinture !

Tous les composants et systèmes LEICA ont été fabriqués soigneusement selon les méthodes de production les plus modernes. Si vous rencontrez des problèmes avec votre appareil, n’essayez pas de réparer vous-même l’appareil ou les composants, mais adressez-vous à votre représentation Leica.

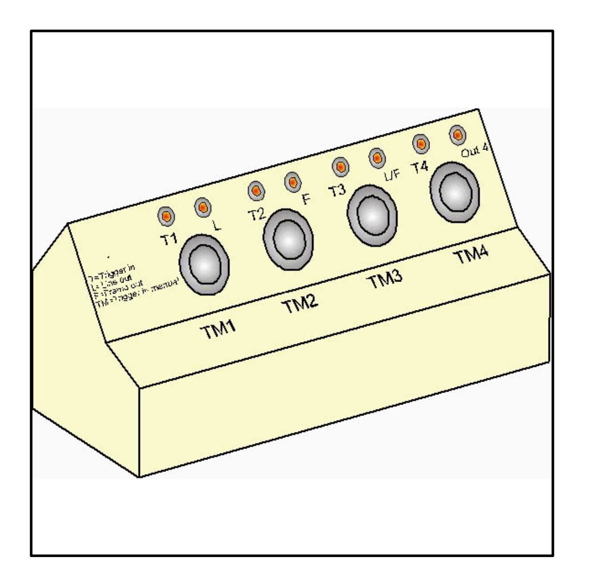


Avant chaque déplacement du système à foyer commun, il faut nettoyer celui-ci à fond. Ceci concerne particulièrement les systèmes, qui se trouvent dans les laboratoires de recherche biomédicale.

Ceci est nécessaire afin d’éviter une éventuelle contamination et de faire courir un danger à d’autres personnes. Prenez garde non seulement à la surface mais aussi aux ventilateurs et climatiseurs, car ces appareils sont de véritables nids à poussière.

18. Console de commande de déclenchement en option

18.1. Description des fonctions



La console de commande optionnelle sert à contrôler les signaux de déclenchement d'entrée et de sortie. En outre, les signaux de déclenchement contrôlant les séquences d'acquisition peuvent être déclenchés manuellement.

La console de commande peut être commandée sous le n° de référence 156108330 auprès de votre agence Leica.

Figure 33: Face avant de la console de commande de déclenchement

Elément	Fonction
T1	Témoin lumineux; indique si un signal de déclenchement a été envoyé manuellement dans le canal de déclenchement 1, ou si un signal de déclenchement externe est reçu via le connecteur T1 (face arrière de la console)
T2	Témoin lumineux; indique si un signal de déclenchement a été envoyé manuellement dans le canal de déclenchement 2, ou si un signal de déclenchement externe est reçu via le connecteur T2 (face arrière de la console)
T3	Témoin lumineux; indique si un signal de déclenchement a été envoyé manuellement dans le canal de déclenchement 3, ou si un signal de déclenchement externe est reçu via le connecteur T3 (face arrière de la console)
T4	Témoin lumineux; indique si un signal de déclenchement a été envoyé manuellement dans le canal de déclenchement 4, ou si un signal de déclenchement externe est reçu via le connecteur T4 (face arrière de la console)
Out4	Témoin lumineux; s'allume quand un signal de déclenchement externe est envoyé dans le canal de déclenchement 4 (signal TTL standard)

L	Témoin lumineux; indique le signal de ligne. Ce témoin est allumé pendant toute la durée d'acquisition de données dans un balayage de ligne.
F	Témoin lumineux; indique le signal de frame. Ce témoin est allumé pendant toute la durée d'acquisition d'une image (Frame).
L/F	L'opérateur logique ET entre le signal de ligne L et le signal de trame F
TM1	Touche; elle génère un signal de déclenchement dans le canal de déclenchement 1. Ce signal peut être reçu et traité par le système à foyer commun.
TM2	Touche; elle génère un signal de déclenchement dans le canal de déclenchement 2. Ce signal peut être reçu et traité par le système à foyer commun.
TM3	Touche; elle génère un signal de déclenchement dans le canal de déclenchement 3. Ce signal peut être reçu et traité par le système à foyer commun.
TM4	Touche; elle génère un signal de déclenchement dans le canal de déclenchement 4. Ce signal peut être reçu et traité par le système à foyer commun.

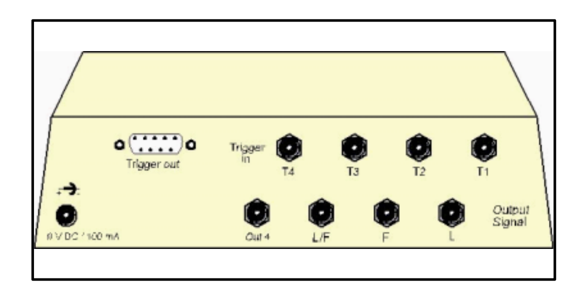
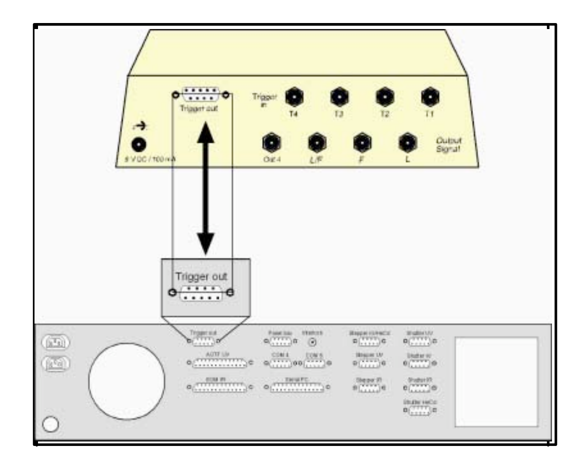


Figure 34: Face arrière de la console de commande de déclenchement

Elément	Fonction
Trigger out	Connecteur pour le raccordement à la prise Trigger–out à l'arrière de l'unité d'alimentation
9V DC / 100 mA	Alimentation en tension de la console de commande de déclen-chement
T1	Connecteur pour les signaux de déclenchement d'entrée (5V, 100msec, 2,2 kOhm)
T2	Connecteur pour les signaux de déclenchement d'entrée (5V, 100msec, 2,2 kOhm)
T3	Connecteur pour les signaux de déclenchement d'entrée (5V, 100msec, 2,2 kOhm)
T4	Connecteur pour les signaux de déclenchement d'entrée (5V, 100msec, 2,2 kOhm)

Out4	Connecteur de sortie d'un signal de déclenchement (TTL standard) généré par le système à foyer commun
L	Signal de ligne. Ce signal a la valeur d'un «1» logique pendant toute la durée d'acquisition de données dans un balayage de ligne.
F	Signal de trame (Frame signal). Ce signal a la valeur d'un «1» logique pendant toute la durée d'acquisition de données pour une image (Frame).
L/F	L'opérateur logique ET entre le signal de ligne L et le signal de trame F

18.2. Installation



La console de commande de déclenchement est raccordée au système à foyer commun de la façon suivante :

1. Le câble plat fourni est raccordé au connecteur «Trigger out» à l'arrière de la console ainsi qu'au connecteur «Trigger out» à l'arrière de l'unité d'alimentation.
2. Raccordez la console au bloc d'alimentation fourni, et le bloc d'alimentation à la prise secteur 230 V AC.

Figure 35: Installation de la console de commande de déclenchement

18.3. Application

Les signaux de déclenchement externes (connecteurs «T1» à «T4») sont transmis au système à foyer commun par la console de commande via des câbles BNC.

Les signaux de déclenchement externes peuvent être envoyés à des périphériques externes via le connecteur «Out4».

Les touches «TM1» à «TM4» peuvent être utilisées pour tester les connexions.

19. Déclaration de Conformité

Manufacturer: Leica Microsystems Heidelberg GmbH

Address: Am Friedensplatz 3
Germany, 68165 Mannheim

Product: **TCS SP2 Confocal Laser Scanning Microscope**

Option: AOBS, RS

We declare that the product described herein complies with the following European Directives:

89/336/EEC Directive on Electromagnetic compatibility

73/23/EEC Directive on Low-voltage equipment

The product conforms to the standards:

EN 61326-1: 1997 + EN 61326/A1: 1998
EMC requirements for Class A electrical equipment for measurement, control and laboratory use

EN 61000-3-2: 2000
Electromagnetic compatibility (EMC)
Part 3-2: Limits – Limits for harmonic current emissions

EN 61000-3-3: 1995
Electromagnetic compatibility (EMC)
Part 3: Limits – Section 3: Limitation of voltage fluctuations and flicker in low-voltage supply systems for equipment with rated current ≤ 16A

EN 61010-1: 2001
Safety requirements for electrical equipment for measurement, control and laboratory use; Part 1: General requirements

EN 60825-1: 1994 + A11: 1996 + A2: 2001
Safety of laser products
Part 1: Equipment classification, requirements and user's guide

Manager Research & Development

Mannheim, Germany
January 01, 2004

Dr. Rafael Storz

A

B

C

D

E

F

G

I